

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**UNIDAD DE POSGRADO**

**Estudio de los aceites y determinación de la actividad  
antimicrobiana del fruto de *Schinus molle* L. “Molle”**

**TESIS**

Para optar el Grado Académico de Magíster en Recursos  
Vegetales y Terapéuticos

**AUTOR**

Eriberto Carrasco Raymundez

**ASESOR**

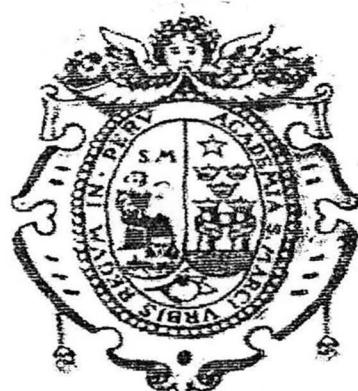
Pablo Enrique Bonilla Rivera

Lima – Perú

1998

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA)

ESCUELA DE POST GRADO  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA  
UNIDAD DE POST GRADO



ESTUDIO DE LOS ACEITES Y DETERMINACION  
DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA  
DEL FRUTO DE Schinus molle L. "MOLLE"

*Tesis para optar al grado académico de*  
**MAGISTER**  
**EN RECURSOS VEGETALES Y TERAPEUTICOS**

**Bachiller ERIBERTO CARRASCO RAYMUNDEZ**

**ASESOR: Mg. PABLO ENRIQUE BONILLA RIVERA**

**LIMA - PERU**

1998



A la memoria de mi padre Zenobio,  
a mi madre Fernandina por su comprensión,  
a mis hermanos, Omar Gerardo, Próspero,  
Reinaldo y Marco Cayo, por su apoyo .

Mi profundo agradecimiento

a quienes  
me ayudaron en la culminación  
del presente trabajo

Al Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera  
por su valioso apoyo en la ejecución  
del presente trabajo.

A los distinguidos miembros del Jurado

Dra. Dolores Bazalar de Valdivia.  
Dra. Luisa Negrón Ballarte  
Dr. Gerardo Gamarra Ballena  
Dr. Américo Castro Luna  
Dr. P. Enrique Bonilla Rivera

por su amistad y sus oportunas sugerencias

# **SUMARIO**

## **SUMMARY**

## **RESUMEN**

### **I.- INTRODUCCION**

### **II.- GENERALIDADES**

#### **2.1.0. ACEITE FIJO**

- 2.1.1. Características
- 2.1.2. Obtención
- 2.1.3. Química
- 2.1.4. Propiedades organolépticas
- 2.1.5. Clasificación
- 2.1.6. Usos

#### **2.2.0. ACEITE VOLATIL**

- 2.2.1. Características
- 2.2.2. Obtención
- 2.2.3. Química
- 2.2.4. Propiedades organolépticas
- 2.2.5. Clasificación
- 2.2.6. Usos
- 2.2.7. Cromatografía

#### **2.3.0. ESTUDIO DE LA ESPECIE**

- 2.3.1. Antecedentes
- 2.3.2. Ubicación sistemática
- 2.3.3. Distribución
- 2.3.4. Descripción morfológica
- 2.3.5. Composición química
- 2.3.6. Usos

### **III.- PARTE EXPERIMENTAL**

#### **3.1.0. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS**

#### **3.2.0. ESTUDIO DE LA ESPECIE**

##### **3.2.1. Preparación de la muestra**

#### **3.3.0. ANALISIS DE LA DROGA**

##### **3.3.1. Requisitos de calidad**

##### **3.3.2. Marcha fitoquímica preliminar**

#### **3.4.0. OBTENCION Y ANALISIS DE ACEITES**

##### **3.4.1. Obtención del aceite fijo**

##### **3.4.2. Obtención del aceite volátil**

##### **3.4.3. Reacciones generales de reconocimiento.**

##### **3.4.4. Análisis del aceite fijo**

##### **3.4.5. Análisis del aceite volátil**

#### **3.5.0. CARACTERIZACION DE ACEITES**

##### **3.5.1. Caracterización del aceite fijo**

##### **3.5.2. Caracterización del aceite volátil**

#### **3.6.0. DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA**

##### **3.6.1. Fundamento**

##### **3.6.2. Cepas de estudio**

##### **3.6.3. Determinación de resistencia**

##### **3.6.4. Procedimiento**

### **IV.- RESULTADOS**

### **V.- DISCUSION DE RESULTADOS**

### **VI.- CONCLUSIONES**

### **VII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

## RESUMEN

Diferentes partes (frutos, hojas, resinas) de *Schinus molle* L., popularmente denominada “molle”, son usadas desde la época pre-colombina. El presente estudio ha sido orientado al control de calidad de la droga (fruto), determinando: 4.35 % de materias extrañas, 12 % de humedad, 7.2 % de cenizas totales, 30.44 % y 60.29 % de sustancias solubles en agua y alcohol respectivamente. Asimismo, se obtuvo 1.2 % de aceite fijo, el cuál presenta: punto de solidificación a 28 °C, punto de fusión a 52.8 °C e índices de acidez 2.8, de saponificación 182, y de iodo 108. Se han identificado ácido octanoico, palmítico, esteárico, oléico, linoléico y patchouleno.

Por hidrodestilación se obtuvo 2.87 % de aceite volátil, en el cuál se determinó el índice de refracción 1.45, densidad 0.8420, y los índices de acidez 2.4, éster 3.1 y fenoles 2.85. Se han identificado compuestos como:  $\alpha$ -pineno, canfeno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -mirceno,  $\beta$ -felandreno, D-limoneno, 3-careno,  $\alpha$ -cariofileno,  $\alpha$ -cubebeno y spatulenol.

En la determinación de la actividad antimicrobiana del aceite volátil, realizada por el método de excavación en placa, se observó que *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Micrococcus luteus* son sensibles, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Acinetobacter* sp. y *Proteus vulgaris* son poco sensibles, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri* y *Pseudomonas aeruginosa* son resistentes.

**Palabras Claves.-** Aceite fijo, aceite volátil, actividad antimicrobiana, *Schinus molle* L., molle.

# I INTRODUCCION

Actualmente hay una tendencia al retorno hacia la naturaleza, sea por relación directa (ecoturismo), alimentación en base a productos naturales (cultivos orgánicos), o al uso de especies vegetales (plantas medicinales) para tratar problemas de salud; en éste último, su utilización alcanza hasta el 70% de la población según refiere la declaración de la OMS en Alma Atta en 1987.

Nuestra historia nos muestra que el uso de plantas medicinales, viene desde los ancestros como una práctica que se ha legado de generación en generación y que perdura hasta nuestros días. El Perú por la diversidad de regiones y climas es depositario de una extraordinaria y variada flora, algunas ya conocidas y usadas en forma familiar, y otras que faltan ser revaloradas y se hallan escondidas en el conocimiento del poblador de la zona.

*Schinus molle L.* es una especie, ampliamente distribuida en el Perú que se ha adaptado a diversas latitudes. Se atribuyen propiedades curativas a distintas partes de la planta las cuales se tratan de demostrar en numerosos estudios, realizados en diferentes países.

Por lo expuesto, se plantea el presente estudio con los siguientes objetivos :

- 1.- Determinación de los parámetros de calidad de la droga.
- 2.- Obtención, análisis y caracterización de los aceites fijo y volátil del fruto de *Schinus molle L.*
- 3.- Determinación de la actividad antimicrobiana del aceite volátil del fruto de *Schinus molle L.*

## **II GENERALIDADES**

### **2.1.0. ACEITE FIJO** 5,16,26,32,36,37

Denominados también lípidos o grasas; son sustancias naturales, ésteres del ácido graso y la glicerina, constituyen estructuras celulares (fosfo y glicolípidos), elementos de revestimiento (ceras, cutinas) y sustancias de reserva (cebo). Pueden encontrarse en diferentes partes de la planta: semillas (aceite de algodón, sésamo, ricino), frutos (aceite de oliva), gérmen (trigo). Así también en animales; en tejido subcutáneo, médula ósea (maníferos), secreciones (leche) e hígado (peces).

### **2.1.1. CARACTERISTICAS** 23,36,37.

Los aceites fijos, por lo general , presentan las siguientes características:

- a) Son de consistencia variable: líquidos, semisólido y sólidos.
- b) Son sustancias untuosas y suaves al tacto.
- c) Su grado de viscosidad disminuye con la temperatura.
- d) Generalmente tienen pH ácido.
- e) Al ser expuestos a la humedad se hidrolizan en ácidos grasos (enranciamiento).
- f) Sobre el papel producen una mancha persistente.

### **2.1.2. OBTENCION** 16

Dependiendo de las características del material se pueden emplear los siguientes métodos:

#### A) EXPRESION EN FRIO

El prensado provoca el escurrimiento de un aceite con excelente grado de pureza.

#### B) EXPRESION EN CALIENTE

El prensado en caliente permite obtener mayor rendimiento, pero un aceite de menor calidad.

#### C) EXTRACCION CON VAPOR DE AGUA

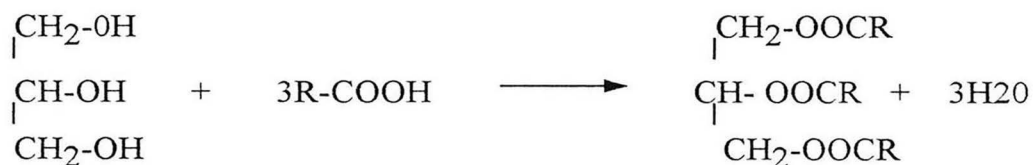
El vapor de agua ablanda los tejidos, destruye las membranas y funde la grasa.

#### D) EXTRACCION CON DISOLVENTES

Se disuelve la grasa de los tejidos, los disolventes mas usados son: éter etílico, n-hexano, tricloroetileno y sulfuro de carbono.

### 2.1.3. QUIMICA

Los aceites fijos o triglicéridos son ésteres del ácido graso y el glicerol (polialcohol).



Los ácidos grasos son monocarboxílicos, generalmente de cadena abierta, pudiendo ser ésta, corta (caproico, caprílico) o larga (esteárico, oléico), a la vez, puede ser saturada (palmítico, esteárico) o mono (oléico), di (linoléico) o triinsaturado (linolénico).

Por éstas características estructurales presentan isomerismo, siendo los ácidos grasos naturales isómeros **trans**.



#### 2.1.4. PROPIEDADES ORGANOLEPTICAS

Los aceites fijos pueden ser líquidos, semisólidos o sólidos presentan:

- **Color.-** Generalmente amarillos claros, algunos característicos como el de olivo ligeramente verdoso y el de pescado amarillo rojizo.
- **Olor.-** Al estado puro o neutro son inodoros
- **Sabor.-** Diverso. Agradable para el olivo, nauseoso para crucíferas.

#### 2.1.5. CLASIFICACION

Los aceites fijos se clasifican de acuerdo a:

**ORIGEN**

**Vegetal:** Aceite de oliva , sésamo.

**Animal:** Grasa de cerdo, sebo de vacuno.

**CONSISTENCIA:**

**Aceite o graso.-** Líquido a 15 °C, aceite de girasol.

**Grasa o Manteca.-** Semisólida, sebo de vacuno.

**Ceras.-** Sólida, cera de abeja.

**INTERACCION CON EL AIRE:**

**Secantes.-** Aceite de colza.

**Semisecante.-** Aceite de pepita de algodón.

**No Secantes.-** Aceite de oliva.

#### 2.1.6. USOS

Son generalmente usados en la alimentación como grasas o aceites. En la industria farmacéutica como bases o disolventes de algunos principios activos. En la fabricación de jabones y en otras industrias.

## 2.2.0. ACEITE VOLATIL <sup>16,20,36,37</sup>

Denominado también aceite esencial, aceite etéreo o esencia. Es un complejo odorífero constituido por diversas sustancias orgánicas (terpenos y no terpenos, que a su vez pueden ser hidrocarburos, aldehidos, alcoholes, cetonas, etc.).

Se localiza en estructuras especializadas como: pelos glandulares (Labiadas), células modificadas del parénquima (Piperaceas), tubos oleíferos (Umbelíferas), canales lisógenos ó esquizógenos (Pinaceas). Además, en diferentes partes de la planta como: semilla (anís), fruto (naranja), hoja (eucalipto) y raíz (valeriana).

En la planta actúa como repelente, para su protección, y atrayente, para facilitar la polinización.

### 2.2.1. CARACTERISTICAS

El aceite volátil presenta las siguientes características generales:

- a) Se evapora a temperatura ambiente.
- b) Por exposición al medio ambiente tiende a resinificarse modificando su composición, color y olor.
- c) No se saponifica, tampoco se enrancia.
- d) Es una mezcla cuya composición química varía ampliamente.
- e) En reposo y a baja temperatura se separa en dos fases: una líquida llamada **eleopteno**, constituida de hidrocarburos, y otra sólida llamada **estearopteno**, constituida por productos de oxidación.

### 2.2.2. OBTENCION <sup>27,28</sup>

El método de obtención del aceite volátil depende de las características del material vegetal y de su composición. Este puede ser:

#### A) DESTILACION

**Con agua hirviente.**- Cuando el material es seco y la composición no se altera por ebullición.

**Con vapor directo.**- Si la muestra es fresca.

**Con agua y vapor.**- Si el material es seco o fresco y se altera por ebullición.

#### B) EXPRESION

Cuando los principios activos se descomponen en la destilación.

#### C) EXTRACCION CON DISOLVENTES

De gran aplicación en la industria, mayor rendimiento, pero de costo elevado; generalmente se emplea éter de petróleo.

#### D) ADSORCION EN GRASAS

Conocido también como “enfleurage”, se utiliza para drogas que contienen porcentajes bajos de aceite (petalos de flores). Consiste en colocar la droga fresca sobre grasa inodora previamente fundida y extendida sobre laminas de vidrio, la extracción final del aceite volátil se realiza con alcohol.

#### E) EN CONDICIONES SUPERCRITAS

Se emplean gases licuados, un ejemplo es la utilización de dióxido de carbono líquido o al estado supercrítico.

### 2.2.3. QUIMICA

El aceite volátil es generalmente una mezcla de hidrocarburos y sus derivados oxigenados, por lo general, químicamente está constituidos por terpenos, algunos no terpénicos y compuestos aromáticos. En algunas especies predominan los hidrocarburos terpénicos y no terpénicos

(trementina) pero también presentan pequeñas cantidades de compuestos oxigenados, y en otros, la mayor parte son compuestos oxigenados terpénicos y no terpénicos (esencia de clavo).

#### •HIDROCARBUROS

Casi todos los aceites volátiles contienen hidrocarburos, estos consisten en monoterpenos (pineno, limoneno, mirceno) y sesquiterpenos (bisaboleno, farnesol, santaleno).

#### •DERIVADOS OXIGENADOS

Los más comunes son:

**Alcoholes.-** Geraniol, linalol, mentol, borneol, terpineol.

**Aldehidos.-** Citral , citronelal.

**Cetonas.-** Mentona, carvona, pulegona. canfenona, tuyona.

**Fenólicos.-** Eugenol, timol, carvacrol.

**Eteres fenólicos.** Anetol, safrol, apiol.

### 2.2.4. PROPIEDADES ORGANOLEPTICAS

Los aceites volátiles generalmente, son líquidos muy fluidos y algunos son sólidos (alcanfor), presentan:

**Olor.** Variable, que recuerda a la planta o droga de donde proviene y puede modificarse por exposición al medio ambiente.

**Sabor.-** Variable, algunos dulces, picantes, caústicos o ardientes.

**Color.-** La mayoría son incoloros cuando están puros y frescos pero, en general, son amarillentos y por exposición al medio ambiente toman diferentes colores.

### 2.2.5. CLASIFICACION

La clasificación de los aceites volátiles es arbitrario, porque contienen químicamente numerosos compuestos que pertenecen a clases químicas distintas y la sustancia utilizada para su clasificación no es necesariamente la que está presente en mayor cantidad.

La clasificación usual es de acuerdo a:

ORIGEN:

- **Naturales.**- Vegetal o animal.
- **Sintéticos.**- Iowas

ORIGEN BIOSINTETICO.

- **Derivados terpénicos.**- Formados por la vía del acetato-ácido mevalónico.
- **Compuestos aromáticos.**- Formado por la vía del ácido shiquímico-fenil propanoide.

PUNTO DE EBULLICION.

- **Aceites fijadores.**- De peso molecular alto.
- **Aceites persistentes.**- Volátiles, de acción por varios días.
- **Aceites fugaces.**- Muy volátiles, de acción por pocas horas.

### 2.2.6. USOS <sup>32,41</sup>

Los aceites volátiles tienen diversas aplicaciones (Cuadro N° 1):

- Por su acción terapéutica; como expectorante (esencia de eucalipto), sedante (valeriana, lavanda), antiséptico (esencia de clavo, tomillo), carminativo (anís), antibacteriano y antifúngico (esencia de romero, geranio) y en aromaterapia.
- Como aromatizantes y saborizantes de alimentos (especias) y medicamentos (anís, menta, canela).
- En perfumería como materia prima para productos de síntesis (esencia de trementina).

CUADRO Nº 1  
ACEITE VOLATIL Y USOS

FUENTE NATURAL	USOS	COMPONENTE
<i>Coriandrum sativum</i>	Saborizante	Linalol
<i>Mentha piperita</i>	Carminativo	Mentol
<i>Cinnamomum camphora</i>	Rubefaciente	Alcanfor
<i>Chenopodium ambrosoides</i>	Antihelmintico	Ascaridol
<i>Eucalyptus globulus</i>	Expectorante	Cineol
<i>Eugenia caryophyllata</i>	Antiséptico	Eugenol
<i>Petroselinum sativum</i>	Especia	Apiol
<i>Pimpinella anisum</i>	Antiflatulento	Anetol

### 2.2.7. CROMATOGRAFIA <sup>34,38</sup>

En el estudio del aceite volátil la cromatografía es un método de análisis que permite obtener información importante de la composición.

#### CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.

Se recomienda:

**Muestra:** El aceite esencial diluido en 9 partes de tolueno.

**Estándar:** Diluidos en tolueno (1:30)

**Adsorbente:** Silicagel 60F

**Sistema de solvente:** Tolueno: Acetato de etilo.

(93:7), (95:5), (90:10).

**Revelador:** UV. 264 nm, 365 nm.

Anisaldehído- Ácido sulfúrico.

Vainillina - Ácido sulfúrico

Ácido fosfomolibdico.

## CROMATOGRAFIA DE GASES.

Es el método más empleado en el análisis del aceite volátil, aunque es importante destacar que su empleo es eficiente cuando se usa a la vez con otros métodos de separación.

### 2.3.0. ESTUDIO DE LA ESPECIE

#### 2.3.1. ANTECEDENTES

En la bibliografía se pueden encontrar numerosas referencias entre ellos:

- ANON (1909), GONZALES, A. (1937), CREMONINI, A. (1928), BERNHARD, R. A. y WROLSTAD, R. (1963). Reportaron el aislamiento de  $\beta$ -felandreno.
- GONZALES, A. (1937). Aisló carvacrol, O-etil fenol.
- MADRID, G. P. (1945). Realizó el estudio Bromatológico de la chicha de molle.
- OTTOLINO, G. (1948). Realizó el estudio del aceite de *Schinus molle* L.
- SEONANE, E. (1956). Aisló el ácido isomasticadienonálico y el ácido isomasticadienonálico de metilo.
- MONTES, A. L., BANDINELLI, C. O. y DAVIDSON, E. (1961). Estudiaron la composición del aceite esencial en hojas.
- MARTINEZ, R. M. (1961). Contribuyó al estudio y aplicación industrial del aceite esencial, obteniendo un rendimiento de 3.35%.
- BERNHARD, R. A. y WROLSTAD, R.. (1963) Reportaron el aislamiento de  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, canfeno, mirceno,  $\beta$ -felandreno, limoneno, y p- cineno.
- ZAIDI, S. M. A., HANAN, A. y BABAR, S. (1970). Realizaron el estudio de la actividad farmacológica de *Schinus molle*.

- DOMINGUEZ, A., CARMONA, J. F. y DE VENEGAS, R. B. (1971).  
Determinaron el ácido lignocérico.
- STUAR, J., TERHUNE, J., y col. (1974). Reportaron la separación y  
elucidación estructural de un nuevo hidrocarburo de la serie sesquiterpeno  
llamado  $\beta$ -spatuleno.
- JENNINGS, W. G. y BERNHARD, R. A. (1975). Identificaron los  
componentes de los aceites esenciales de *Schinus molle* de California.
- HASHIM, F. M., EL-HOSSARY, G. A. y EL-SAKHAWY, F. S. (1978).  
Realizaron el estudio fitoquímico preliminar de *Schinus molle* de Egipto.
- PUSHPA, P. y RASTOGI, R. P. (1978). Aislaron el eufano.
- POZZO-BALBI, T. y col. (1978). Reportaron el aislamiento de 3-epi-  
isomasticadienolálico, ácido isomasticadienónico y ácido isomasticadienónico  
de metilo.
- TORRES, C. J. (1978). Contribuyó al estudio de la elaboración de chicha de  
molle y vinagre a partir del fruto.
- DIKSHIT, A., NAQVI, A. y HUSAIN, A. (1986). Reportaron la actividad  
antifúngica de hojas.
- VARGAS-CORREA, J. B., SANCHEZ-SOLIS, L. y col. (1991). Realizaron el  
estudio de alergenidad del polen.
- GUNDIDZA, M. (1993). Estudió la actividad antibacteriana del aceite esencial.
- DIAZ, A. P. y TORRES D. R. (1998). Contribuyeron al estudio de la actividad  
antimicrobiana del aceite esencial de hojas.



### 2.3.2. UBICACION SISTEMATICA DE LA ESPECIE<sup>8</sup>

REINO	:	EUKARYOPHYTA
SUB-REINO	:	CORMOBIONTA
DIVISION	:	SPERMATOPHYTA
SUBDIVISION	:	ANGIOSPERMAE
CLASE	:	DICOTYLEDONEAE
SUB CLASE	:	ROSIDAEA
ORDEN	:	RUTALES
FAMILIA	:	ANACARDIACEAE
GENERO	:	Schinus
ESPECIE	:	<i>Schinus molle L.</i>

### NOMBRES COMUNES <sup>33</sup>

Perú	:	molle, mulli	Colombia	:	pimientero
Ecuador	:	árbol del pimienta	México	:	pimiento peruano.
Inglaterra	:	peruvian, pepper tree	Panamá	:	pimientero peruano
Venezuela	:	árbol de pimienta			
Otros: culash, huiñan, huigan, huignan, árbol del Perú, Perú, pimienta falso.					

### 2.3.3. DISTRIBUCION <sup>3,6,9,10</sup>

*Schinus molle L.* se distribuye en forma silvestre en todo el Perú, es escaso en la costa y la selva, pero muy abundante en la sierra, principalmente en Apurímac, Ayacucho, Cajamarca, Cuzco, Huánuco y Junín. Crece en climas cálidos, templados, en las quebradas cálidas y abrigadas de los valles interandinos y vertientes occidentales.

Además, crece en Argentina, Chile, Ecuador, Bolivia, Colombia, Brasil, Uruguay, México, América Central, EE.UU., y en Europa en la zona de la cuenca del mediterráneo, entre otros.

#### 2.3.4. DESCRIPCION MORFOLOGICA <sup>39</sup>

Es un árbol de gran tamaño y muy frondoso, puede crecer hasta 10 metros de altura, en el cuál se pueden observar las siguientes características:

**Tallo :** Grueso, tortuoso, con frecuentes excreciones corticales y resina blanquecina, con ramas esparcidas y colgantes en forma de cúpula.

**Hojas.-** Paripennadas, con foliolos alternos y nervadura central muy marcada y prominente en ambas caras (Figura N° 1).

**Inflorescencia.-** Con flores pequeñas y numerosas de color blanquecino agrupadas en panículos (Figura N° 2).

**Flor.-** Bisexual, pentámera y heteroclamidea.

Cáliz gamosépalo, acopado, con sepálos de color verde.

Corola dialipétala con pétalos de color blanco.

Androceo con 10 estambres, anteras ditécicas, aovadas y dorsifijos, y con estilos prominentes.

Gineceo con ovario súpero unilocular, tricarpelar terminando en un estigma trilobulado de color rojo.

**Fruto.-** Tipo drupa agrupados en racimos de color pardo oscuro, epicarpio de color rojo brillante, con sabor ardiente y picante. Inmaduro es carnoso y de color verde (Figura N° 3 y 4).

**Semillas.-** Negras lisas y opacas, conteniendo el embrión y dos cotiledones

FIGURA Nº 1  
HOJAS DE *Schinus molle* L.

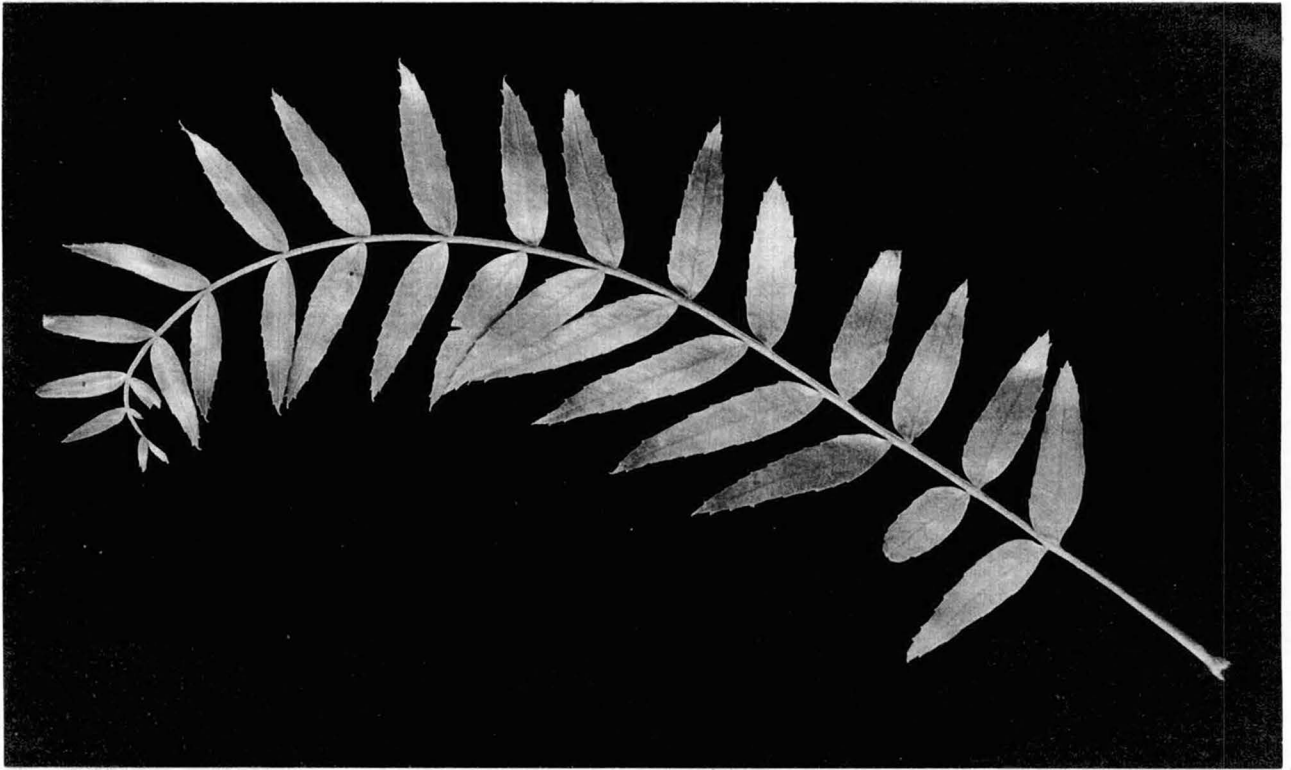


FIGURA Nº 2  
FLORES DE *Schinus molle* L.

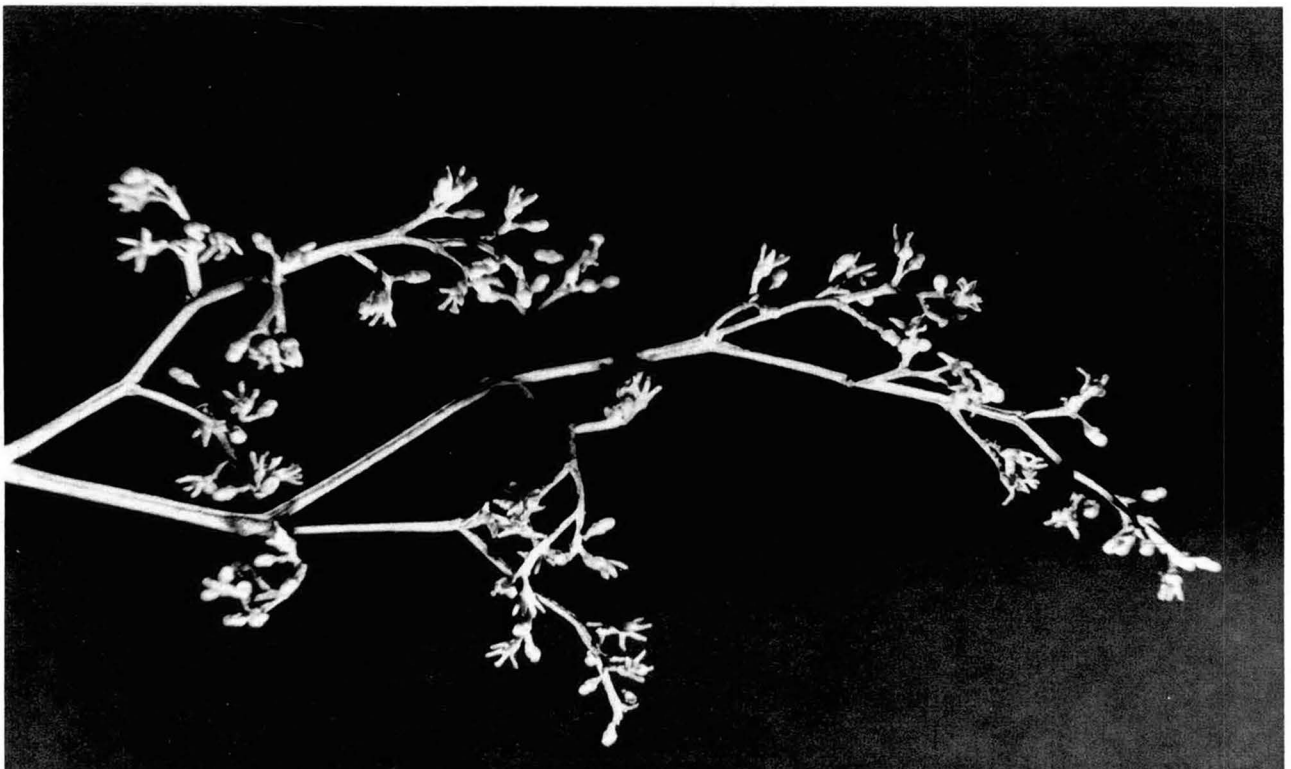


FIGURA Nº 3  
FRUTOS VERDES Y MADUROS DE *Schinus molle* L.

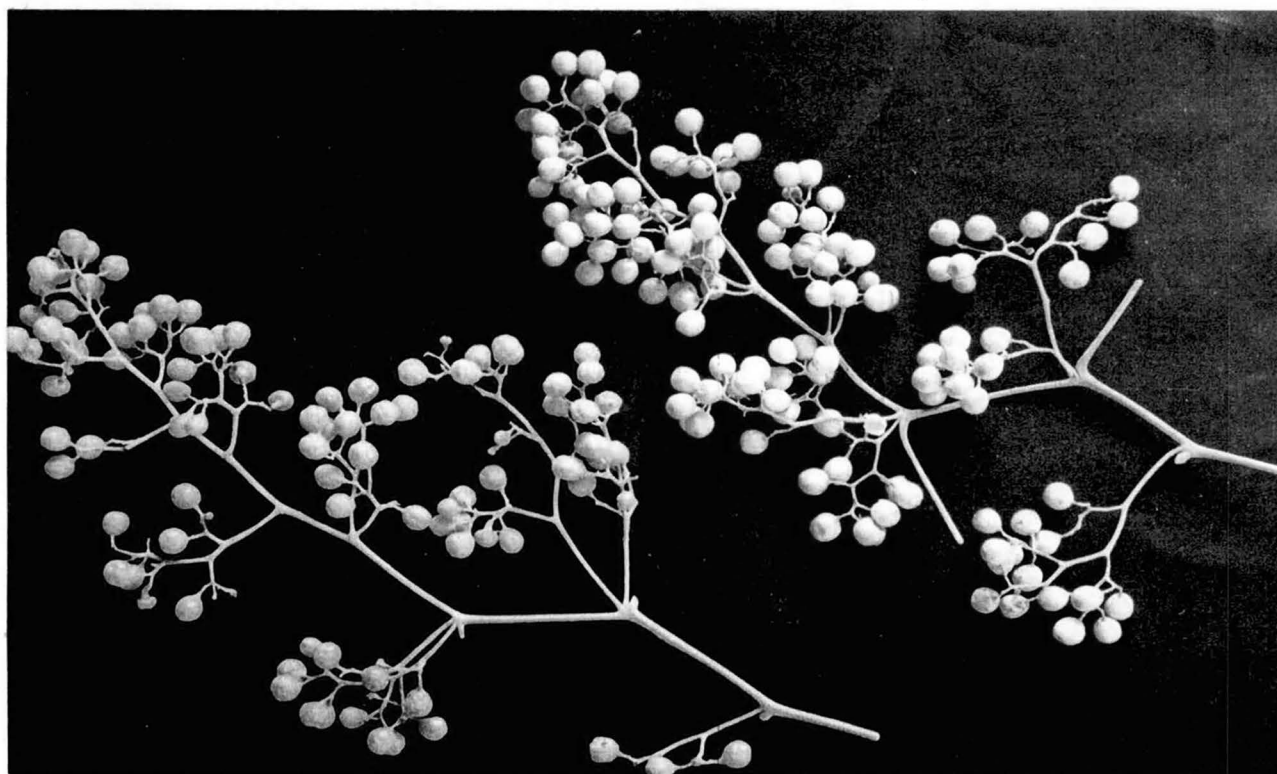
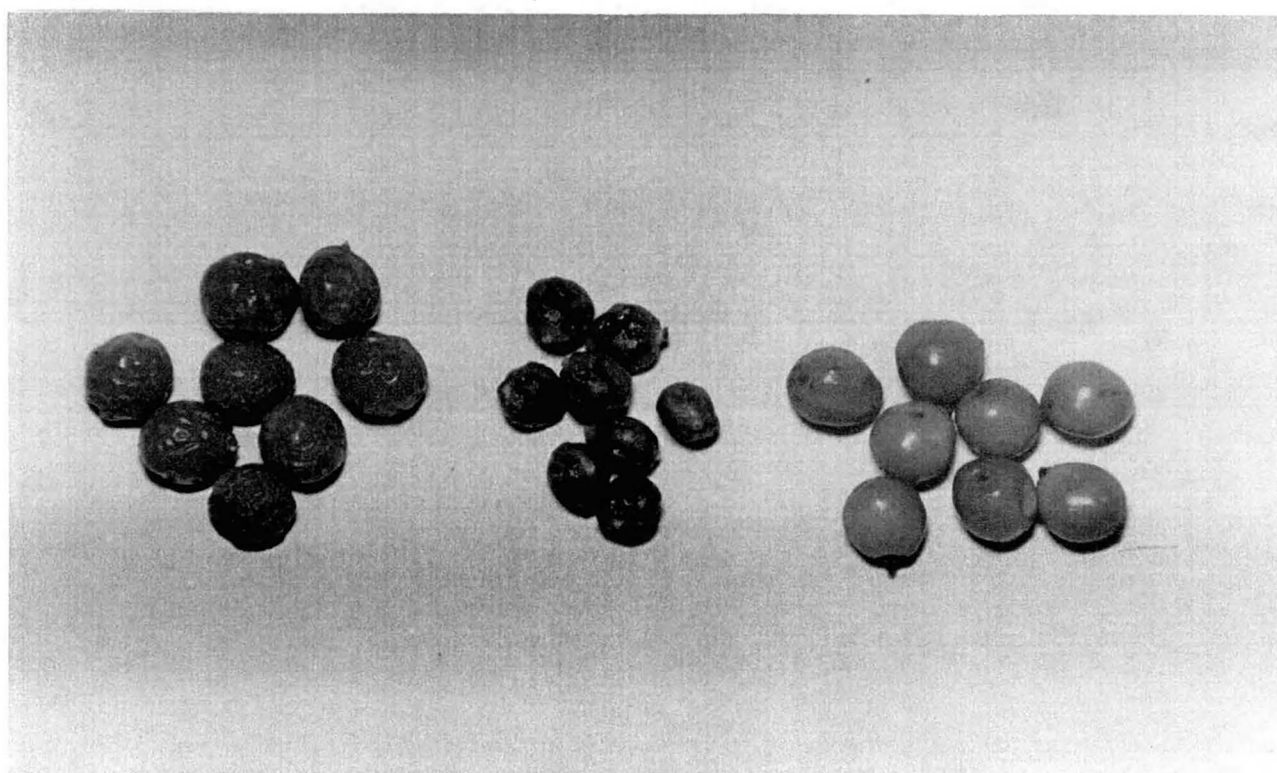


FIGURA Nº 4  
FRUTOS EN DIFERENTES ETAPAS DE MADURACION DE *Schinus molle*



### 2.3.5. COMPOSICION QUIMICA <sup>6</sup>

La bibliografía reporta para cada parte de la planta los siguientes componentes (Cuadro N° 2).

CUADRO N° 2  
COMPOSICION QUIMICA DE *Schinus molle* L.

Parte analizada	Compuesto químico	Referencia
<b>Corteza</b>	Acido Linolénico, Ac. Erúcido, Acido Lignocérico	Diamantoglous y Kull, 1981
<b>Corteza, hojas</b>	Cyclitol, Glucosa, Fructosa	Diamantoglous, 1980
	Arabinosa, Xilosa, Manosa, Galactosa, Glucosamina.	Bar-Nun y col., 1981
	Fitosterina, Levulosa, Acido Palmítico	Montes y Wilkomiesky, 1985
	Acido esteárico	Diamantoglous y Kull, 1982
<b>Hojas</b>	Preisocalamenediol	Delvalle y col., 1987
<b>Fruto</b>	Acido Linoléico, Ac. Linolénico Ac. Behenico, Ac. Lignocérico	Diamantoglous y kull, 1981
	Metil isomasticadienoato	Pozzo y col., 1976
	Acido 3-episomasticadienolálico	Pozzo y col., 1978
	Acido Masticadienónico, lactasa	Joel y col., 1978
	Acido Lignocérico, $\alpha$ - amyrina $\beta$ -sitosterol, Acido Cerótico	Hashim y col., 1978
	Myrceno, Limoneno, $\alpha$ cadinol $\alpha$ -Felandreno, Cideneno. $\beta$ -Felandreno.	Bernhard y col. 1983
		Anon, Wrolstad 1963

### **2.3.6. USOS<sup>1,3,4,21,22,35</sup>**

Entre los usos medicinales que se le atribuye, se pueden mencionar:

**HOJAS.-** Antirreumática, cicatrizante y digestivo. Usado también en la limpieza de los dientes.

**FRUTO.-** Antirreumático, emenagogo, expectorante, antiparasitario y en casos de retención urinaria.

**CORTEZA y RESINA.-** Antirreumático, cicatrizante.

**OTROS USOS.-** Las hojas en tinción, frutos en bebidas fermentadas y la corteza como aromatizador.

# III PARTE EXPERIMENTAL

## 3.1.0. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

### EQUIPOS

Balanza  
Autoclave Webecohturjens y Co. (modelo D-2800 Bremen)  
Estufa Memmert (Con temperatura regulable a 0,1 °C)  
Microscopio  
Ventilador Miray  
Refrigeradora  
Equipo de hidrodestilación  
Mufla Sybron Termoclyne  
Cromatógrafo HRGC-Mega 2 series acoplado a EM, TRIO 1000 FISIONS  
INSTRUMENTS. Detector impacto electrónico positivo.

### MATERIALES

Tubos de ensayo	Placas petri
Pipetas 5 mL 10mL	Excavadores
Probetas	Asa de Kolle
Balones 1 l, 2 l	Algodón
Cocinilla eléctrica	Marcadores de vidrio

### REACTIVOS

Sulfato de sodio anhidro	Agar Mueller Hinton
Tricloruro de fierro 1%	Agar Mac Conkey
Dihidrofénilhidrazina	Agar Manitol Salado
Permanganato de potasio	Agar Baird Parker
Eter étilico	Agar Tripticasa Soya
Metanol	

### 3.2.0. ESTUDIO DE LA ESPECIE

#### 3.2.1. PREPARACION DE LA MUESTRA

##### RECOLECCION

En el mes de febrero de 1997 se recolectaron los frutos maduros de *Schinus molle* L., en forma manual sacando los racimos de diferentes partes del árbol que crece en forma silvestre en el distrito de Quinua, de la provincia de Huamanga, del departamento de Ayacucho (Flujograma N° 1).

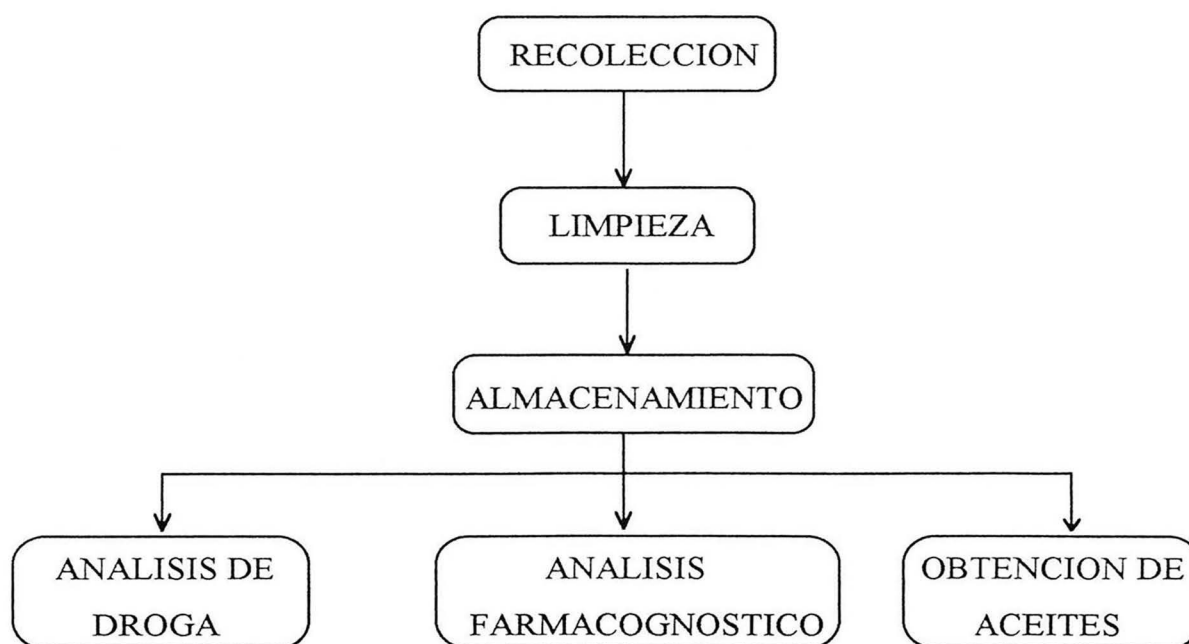
##### LIMPIEZA

Se realiza mediante frotación de los frutos entre las manos y con la ayuda de un ventilador.

##### ALMACENAMIENTO

Los frutos se almacenan en frascos ámbar cerrados herméticamente, en lugar fresco y al abrigo de la luz.

FLUJOGRAMA N° 1  
PREPARACION DE LA MUESTRA





### **3.3.0. ANALISIS DE DROGA**

Los frutos limpios se sometieron a los análisis respectivos (Flujograma N° 2 ).

#### **3.3.1. REQUISITOS DE CALIDAD <sup>11,22,23,40</sup>**

##### **3.3.1.1. DESCRIPCION MACROSCOPICA**

Se realizó la descripción de la droga.

##### **3.3.1.2. DESCRIPCION MICROSCOPICA**

Mediante un corte transversal del fruto, se observaron las características estructurales.

##### **3.3.1.3. MATERIAS EXTRAÑAS**

En 100 g de droga, se realizó la separación manual de sustancias extrañas (inorgánicas y orgánicas), y se determinó su porcentaje.

##### **3.3.1.4. CONTENIDO DE HUMEDAD**

Se determinó por el método azeotrópico, empleando el tolueno como solvente.

##### **3.3.1.5. CONTENIDO DE SUSTANCIAS SOLUBLES**

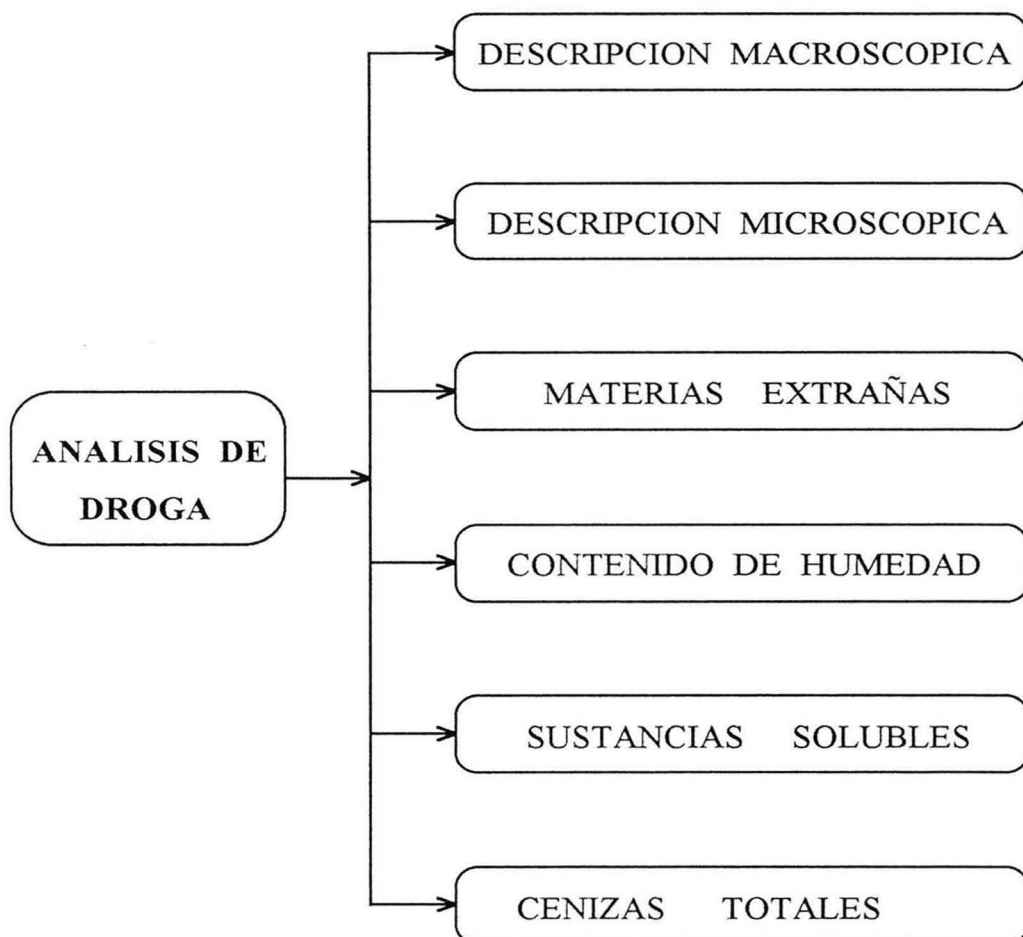
Se realizó la extracción de las sustancias solubles en agua y alcohol 60°, mediante maceración y evaporación hasta sequedad de la alícuota del extracto, obteniendo los residuos correspondientes a:

- **sustancias solubles en agua**
- **sustancias solubles en alcohol 60°**

##### **4.3.1.6. DETERMINACION DE CENIZAS TOTALES**

Por incineración a 700 - 750 °C por 2 horas.

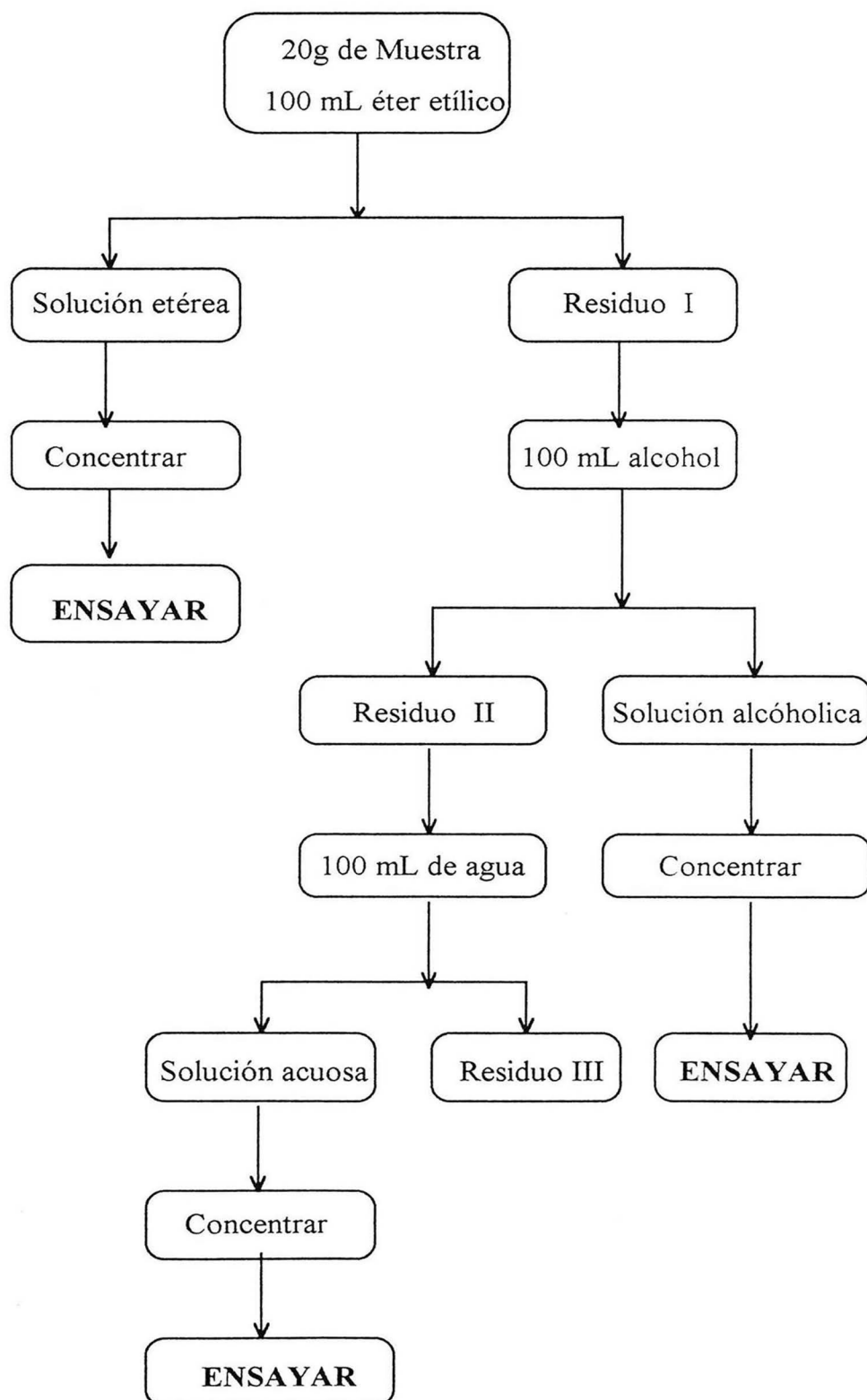
FLUJOGRAMA N° 2  
ANALISIS DE DROGA



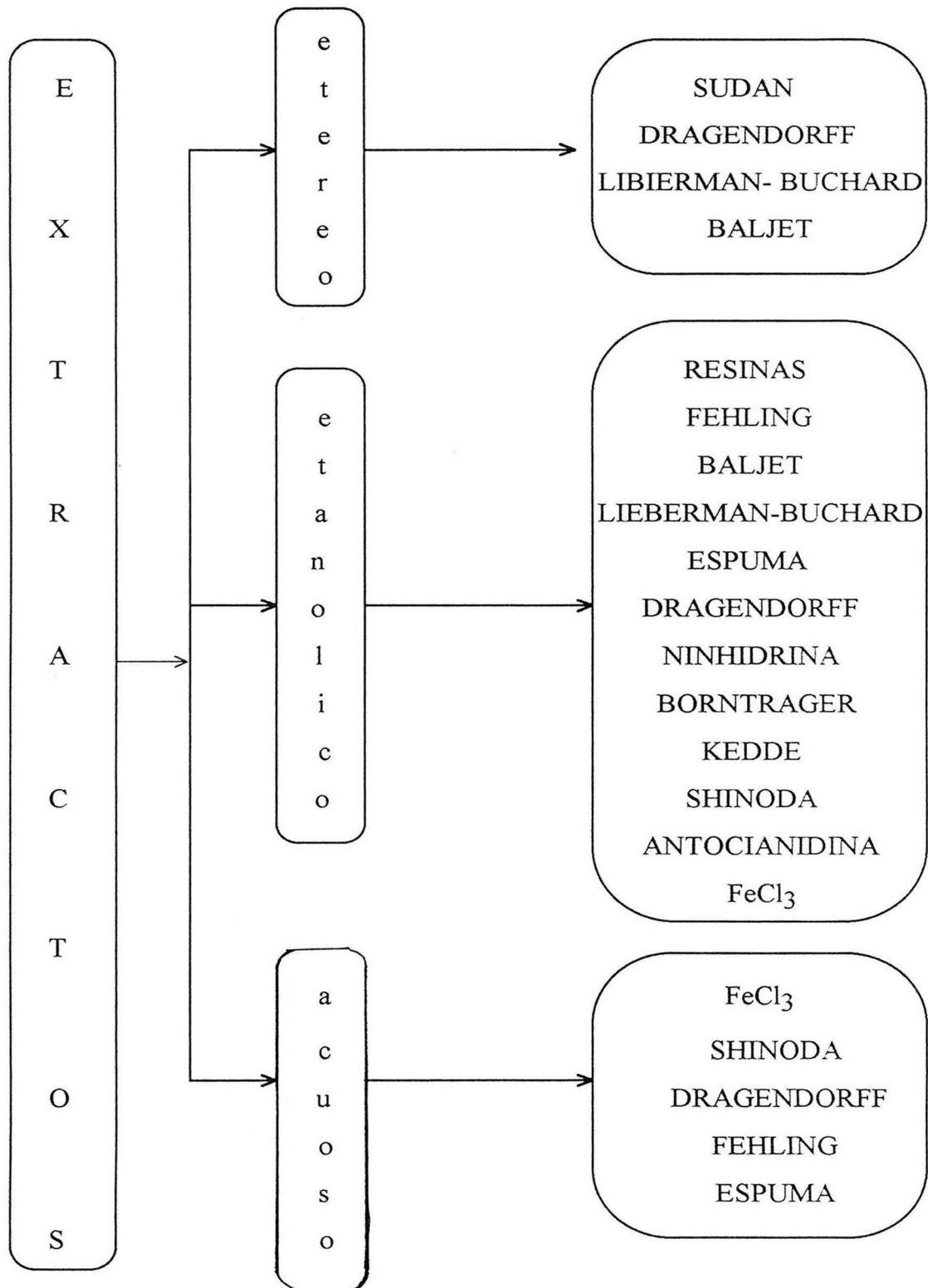
### 3.3.2. MARCHA FITOQUIMICA PRELIMINAR

Por extracción sucesiva con éter, etanol y agua, se obtuvieron los respectivos extractos (Flujograma N° 3) en los que se realizó el reconocimiento de metabolitos secundarios (Flujograma N° 4).

FLUJOGRAMA Nº 3  
PREPARACION DE EXTRACTOS



FLUJOGRAMA Nº 4  
MARCHA FITOQUIMICA PRELIMINAR



### 3.4.0. OBTENCION Y ANALISIS DE ACEITES

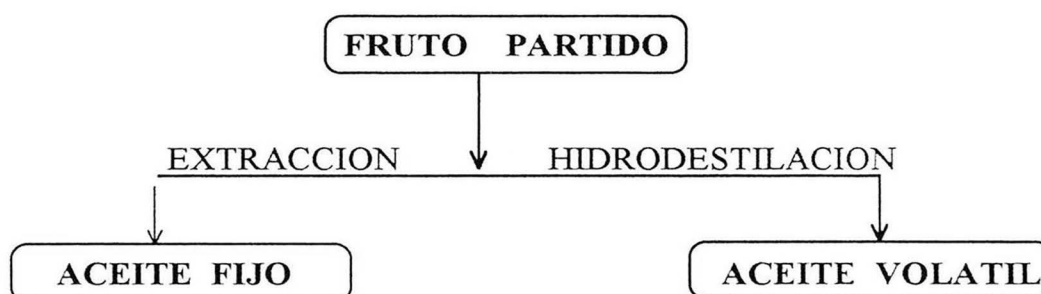
#### 3.4.1. OBTENCION DEL ACEITE FIJO

Por extracción con éter etílico y evaporación del disolvente con corriente de aire se obtiene el aceite fijo (Flujograma N° 5).

#### 3.4.2. OBTENCION DEL ACEITE VOLATIL

Los frutos luego de ser triturados se sometieron inmediatamente, a extracción por el método de hidrodestilación (Clavorange) y se determinó el rendimiento (Flujograma N° 5).

FLUJOGRAMA N° 5  
OBTENCION DE LOS ACEITES



#### 3.4.3. REACCIONES GENERALES DE RECONOCIMIENTO

##### ACEITE FIJO

Reacción de Heidenreich  
Reacción de Hauchercorne  
Reacción de Bellier

##### ACEITE VOLATIL

Tricloruro férrico  
2,4-dinitrofenil hidrazina  
Permanganato de potasio

#### 3.4.4. ANALISIS DEL ACEITE FIJO

El aceite obtenido se sometió a los siguientes análisis (Flujograma N° 6).

### ***ANALISIS ORGANOLEPTICO***

Se describió el olor, color, sabor.

### ***ANALISIS FISICO***

Se determinaron los siguientes parámetros:

SOLUBILIDAD

DENSIDAD

PUNTO DE SOLIDIFICACION

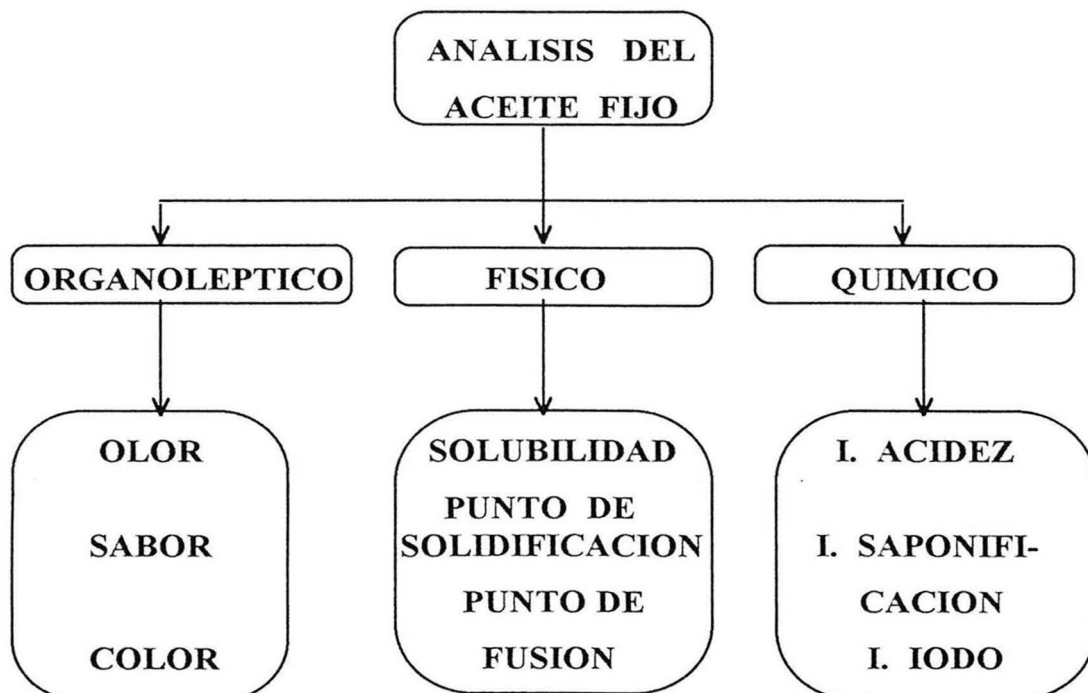
PUNTO DE FUSION

### ***ANALISIS QUIMICO***

Se determinaron los siguientes índices:

- INDICE DE ACIDEZ.- Determina los ácidos grasos libres.
- INDICE DE SAPONIFICACION.- Neutraliza los ácidos libres y los provenientes de ésteres.
- INDICE DE IODO.- Indica la cantidad de iodo fijado en el aceite.

## **FLUJOGRAMA Nº 6 ANALISIS DEL ACEITE FIJO**



### 3.4.5. ANALISIS DEL ACEITE VOLATIL<sup>23,27</sup>

El aceite volátil obtenido se sometió a los siguientes ensayos.

(Flujograma N° 7)

#### *ANALISIS ORGANOLEPTICO*

Se describió el olor, color y sabor.

#### *ANALISIS FISICO*

Se determinaron los siguientes parámetros físicos.

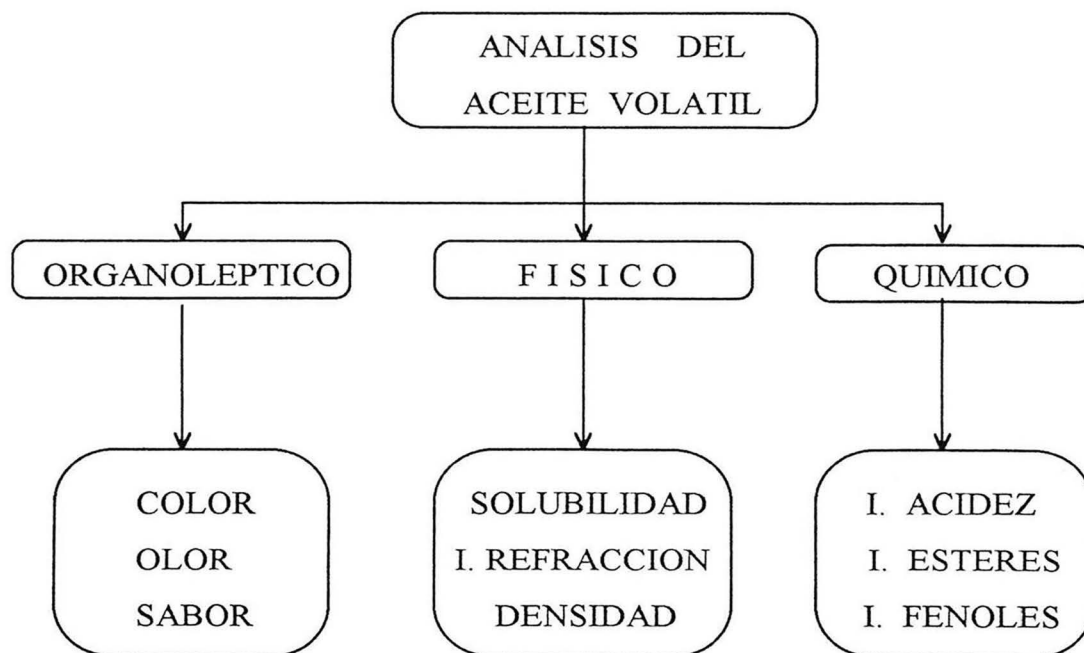
- SOLUBILIDAD
- DENSIDAD
- INDICE DE REFRACCION

#### *ANALISIS QUIMICO*

Se determinaron:

- INDICE DE ACIDEZ
- INDICE DE ESTERES
- INDICE DE LOS FENOLES

FLUJOGRAMA N° 7  
ANALISIS DEL ACEITE VOLATIL



### 3.5.0. CARACTERIZACION DE ACEITES

#### 3.5.1. CARACTERIZACION DEL ACEITE FIJO

Teniendo en cuenta la presencia de muchos ácidos grasos en el aceite fijo y para facilitar su determinación es necesario fraccionar en compuestos saponificables e insaponificables (Flujograma N° 8).

##### SAPONIFICACION<sup>13</sup>

A 5 g de muestra, se adicionó 50 mL de hidróxido de potasio 5N y se sometió a reflujo durante 3 hrs., se enfrió y separó en dos fracciones.

A) A la fracción insoluble se adicionó HCl 5N y se extrajo con éter; la fase etérea se lavó con agua hasta reacción neutra y se evaporó con corriente de aire, obteniendo la **fracción saponificable**.

B) La fracción soluble se extrajo con éter; la fase etérea se lavó con agua hasta neutralidad y se evaporó con corriente de aire, obteniendo la **fracción insaponificable**.

Las fracciones obtenidas se analizaron mediante cromatógrafo de gases y espectrómetro de masas.

##### CONDICIONES DE TRABAJO

**Columna:** Silicagel fundida 25 m largo (capilar) fase OV 1701

Temperatura de inyección 270° C

Temperatura de fuente 270° C

Temperatura de interfase 260° C

150 °C primer minuto 260 °C a los ocho minutos.

#### 3.5.2. CARACTERIZACION DEL ACEITE VOLATIL

##### PREPARACION DE LA MUESTRA

El aceite volátil es una mezcla de diversos componentes, por lo que es necesario realizar el fraccionamiento mediante cromatografía en columna, empleando sucesivamente el éter etílico y metanol, obteniendo



las **fracciones hidrocarbonada y oxigenada** respectivamente (Flujograma N° 8).

Las fracciones obtenidas se analizaron mediante cromatógrafo de gases y espectrómetro de masas.

**CONDICIONES DE TRABAJO.**

**Columna:** Silicagel fundida 25 m largo (capilar) fase OV 1701

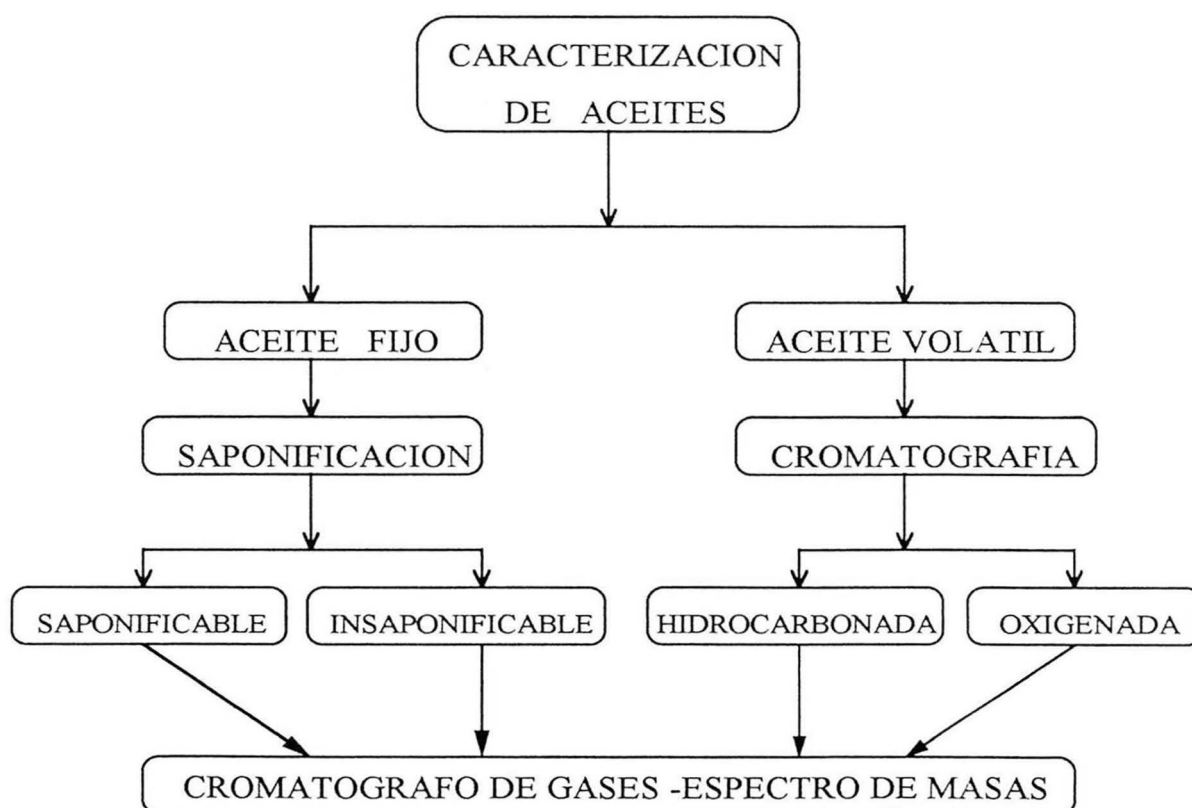
Temperatura de inyección 260°C

Temperatura de fuente 260°C

Temperatura de interfase 220°C

50 °C al primer minuto, 220 °C a los ocho minutos.

FLUJOGRAMA N° 8  
IDENTIFICACION DE ACEITES



### **3.6.0. DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA<sup>29</sup>**

#### **3.6.1. FUNDAMENTO**

Se fundamenta en la inhibición del crecimiento de bacterias por acción del aceite volátil contenido en el fruto de *Schinus molle L.*

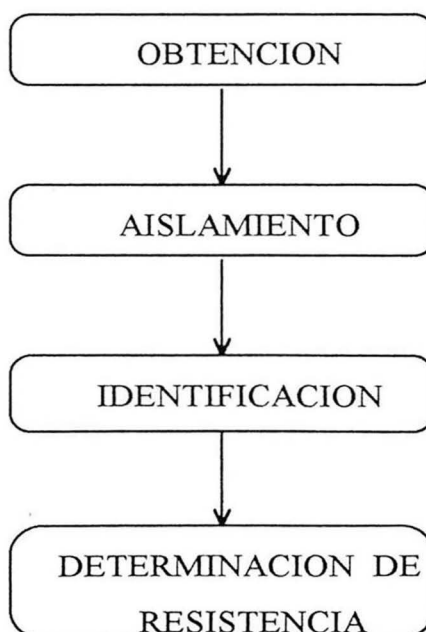
#### **3.6.2. CEPAS DE ESTUDIO**

Las cepas fueron obtenidas de muestras provenientes del Servicio Asistencial de Análisis Clínicos (SAAC), las cuales se identificaron por su morfología y características de crecimiento; empleando medios de diferenciación bioquímica (Cuadro N° 3).

#### **3.6.3. DETERMINACION DE RESISTENCIA<sup>19</sup>**

Se verificó la resistencia de las cepas empleando el método estándar de difusión de Kirby y Bauer.

FLUJOGRAMA N° 9  
OBTENCION DE CEPAS RESISTENTES



CUADRO Nº 3  
CEPAS DE ESTUDIO

CODIGO	MICROORGANISMOS	ORIGEN
BACTERIAS GRAM NEGATIVAS		
IA	<i>Escherichia coli</i>	urocultivo
IB	<i>Escherichia coli</i>	urocultivo
IC	<i>Escherichia coli</i>	urocultivo
ID	<i>Enterobacter aerogenes</i>	secreción faríngea
IE	<i>Enterobacter aerogenos</i>	urocultivo
IF	<i>Enterobacter hafnia</i>	urocultivo
IG	<i>Acitenobacter sp</i>	esputo
IH	<i>Citrobacter sp.</i>	urocultivo
IJ	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	esputo
IK	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	urocultivo
IL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	urocultivo
MI	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	secreción faríngea
IN	<i>Proteus vulgaris</i>	coprocultivo
IO	<i>Shigella flexneri</i>	coprocultivo
IP	<i>Salmonella paratiphy</i>	coprocultivo
BACTERIAS GRAM POSITIVAS		
IIA	<i>Staphylococcus aureus</i>	secreción ótica
IIB	<i>Staphylococcus aureus</i>	s. naso-faríngea
IIC	<i>Staphylococcus aureus</i>	s. furuncular
IID	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6632
IIE	<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 9341

#### **3.6.4. PROCEDIMIENTO** 42,29

- Las cepas debidamente identificadas y codificadas se repicaron en agar tripticasa soya (TSA) y luego se incubaron a 37 °C por 24 horas.
- Se preparó inóculo con una turbidez semejante a ( $3 \times 10^8$  ufc/ml) en la escala de Mac Farland.
- Se incorporó el inóculo al medio TSA, a 45 °C y se dejó solidificar.
- Mediante sacabocados se realizó cuatro excavaciones equidistantes.
- Se colocó en cada excavación 0.1 mL del aceite volátil obtenido.
- Se llevó a incubar a 37 °C durante 24 horas.

## **IV RESULTADOS**

### **4.1.0 ANALISIS DE LA DROGA**

Los resultados obtenidos en la evaluación de los diferentes parámetros, que determinan la calidad de la droga se resúmen de la siguiente manera:

#### **4.1.1. DESCRIPCION MACROSCOPICA**

Los frutos son redondeados de color marrón oscuro y están revestidos por una sustancia azucarada. Con el tiempo disminuyen de tamaño y se tornan rugosos.

#### **4.1.2. DESCRIPCION MICROSCOPICA**

En el corte histológico del fruto se observan (Figura Nº 5):

**EPICARPIO.-** Constituido por una capa de células epidérmicas y de parénquima cortical delgado que contiene cloroplastos.

**MESOCARPIO.-** Constituido por el parénquima fundamental cuyas células drenan el aceite volátil, dando lugar a la formación de los espacios o bolsas esquizógenas.

**ENDOCARPIO.-** En conjunto llamado hueso, que tiene una cubierta dura constituida por células esclerenquimáticas compactas con abundante lignina. Al interior del endorcapio se encuentran el embrión, el tejido nutricio y los dos cotiledones.

#### **4.1.3. MATERIAS EXTRAÑAS**

El porcentaje de materias extrañas presentes en la droga fué 4.35 %.

#### 4.1.4. CONTENIDO DE HUMEDAD

El porcentaje de humedad determinado fué 12 %.

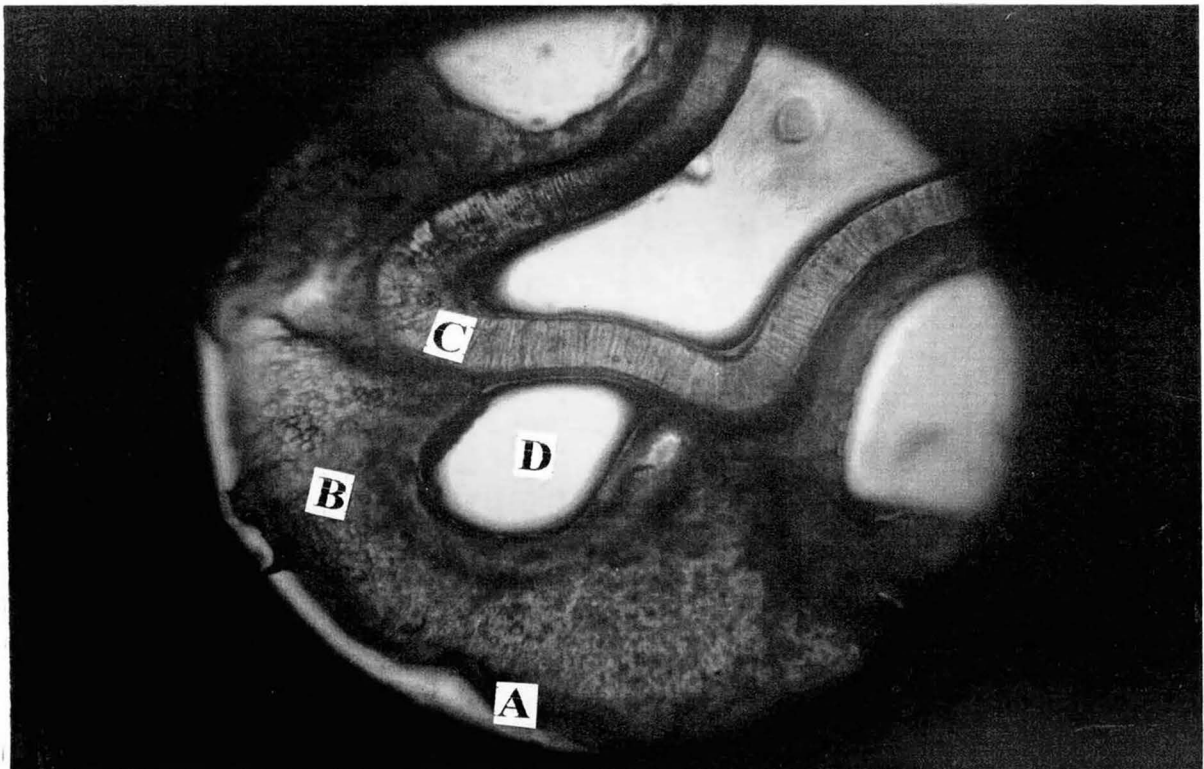
#### 4.1.5. CONTENIDO DE SUSTANCIAS SOLUBLES

El contenido de sustancias solubles en la droga fué:  
30.44% en agua y 60.99 % en alcohol.

#### 4.1.6. DETERMINACION DE CENIZAS TOTALES

El porcentaje de cenizas totales determinado, en la droga, fue 2.78 %.

FIGURA Nº 5  
CORTE HISTOLOGICO DEL FRUTO



A: EPICARPIO      B: MESOCARPIO  
C: ENDOCARPIO    D: ESPACIOS O BOLSAS  
                                 ESQUIZOGENAS

#### 4.2.0. MARCHA FITOQUIMICA PRELIMINAR

En los extractos obtenidos se ensayaron reacciones generales para determinar metabolitos secundarios. Los resultados se evaluaron considerando una escala de 1 a 4 cruces según el contenido del metabolito respectivo (Cuadro N° 4).

CUADRO N° 4  
MARCHA FITOQUIMICA PRELIMINAR

REACCIONES	EXTRACTOS		
	ETEREO	ETANOLICO	ACUOSO
RESINAS		+++	
FEHLING	++++	++++	
BALJET	—	+++	—
LIEBERMAN B. FeCl <sub>3</sub>	++	++	+
NINHIDRINA		+++	—
BORTRANGER		—	
SHINODA	++	+	
KEDDE		—	
ANTOCIANIDINA		+++	
DRAGENDORF	+	—	
SUDAN	++++	—	—
SAPONINAS		—	

#### 4.3.0. OBTENCION DE ACEITES

Aplicando el método elegido para cada tipo de aceite se han obtenido en los siguientes porcentajes .

ACEITE FIJO 1.2 %

ACEITE VOLATIL 2.87 %

#### 4.4.0. REACCIONES GENERALES DE RECONOCIMIENTO

Los resultados obtenidos en el reconocimiento, de cada tipo de aceite, mediante reacciones generales se resumen en el cuadro N° 5.

CUADRO N° 5

##### RECONOCIMIENTO DE ACEITES

ACEITE FIJO	COLORACION
Reacción de Heidenreich	Amarillo pardusco
Reacción de Hauchercorne.	Amarillo rojizo
Reacción de Bellier	Verde
ACEITE VOLATIL	
Tricloruro férrico	Marrón oscuro
2,4-dinitrofenil hidrazina	Anaranjado
Permanganato de potasio	Decoloración

#### 4.5.0. ANALISIS DE ACEITES

Los resultados obtenidos de los análisis organoléptico, físico y químico de los aceites reconocidos como fijo o volátil se presentan en el cuadro N° 6 .



CUADRO Nº 6  
ANALISIS DE ACEITES

ACEITE FIJO		
ORGANOLEPTICO		
COLOR	OLOR	SABOR
blanco	sui-generis	acre picante
ANALISIS FISICO		
Punto de solidificación		28°C
Punto de fusión		52.8°C
ANALISIS QUIMICO		
Indice de acidez		2.8
Indice de saponificación		182
Indice de iodo		108
ACEITE VOLATIL		
ORGANOLEPTICO		
COLOR	OLOR	SABOR
blanco	sui-generis	acre picante
ANALISIS FISICO		
Indice de refracción		1.45
Densidad		0.8420
ANALISIS QUIMICO		
Indice de acidez		2.8
Indice de éster		3.1
Indice de fenoles		2.85

#### 4.6.0. CARACTERIZACION DE ACEITES

Los compuestos identificados en cada una de las fracciones de los aceites fijo y volátil se presenta en el cuadro N° 7.

CUADRO N° 7  
IDENTIFICACION DE ACIETES

ACEITE FIJO
Acido octanoico Patchouleno Acido palmítico Acido oléico Acido esteárico Acido linoléico
ACEITE VOLATIL
$\alpha$ - pineno canfeno $\beta$ -pineno $\beta$ -mirceno $\beta$ -felandreno D-limoneno 3- careno $\alpha$ -cariofileno $\alpha$ -cubebeno spatulenol

En los cromatogramas N° 1 y 2 correspondiente al aceite fijo se observan los tiempos de retención característico, en las condiciones de trabajo realizadas.

#### CROMATOGRAMA N° 1

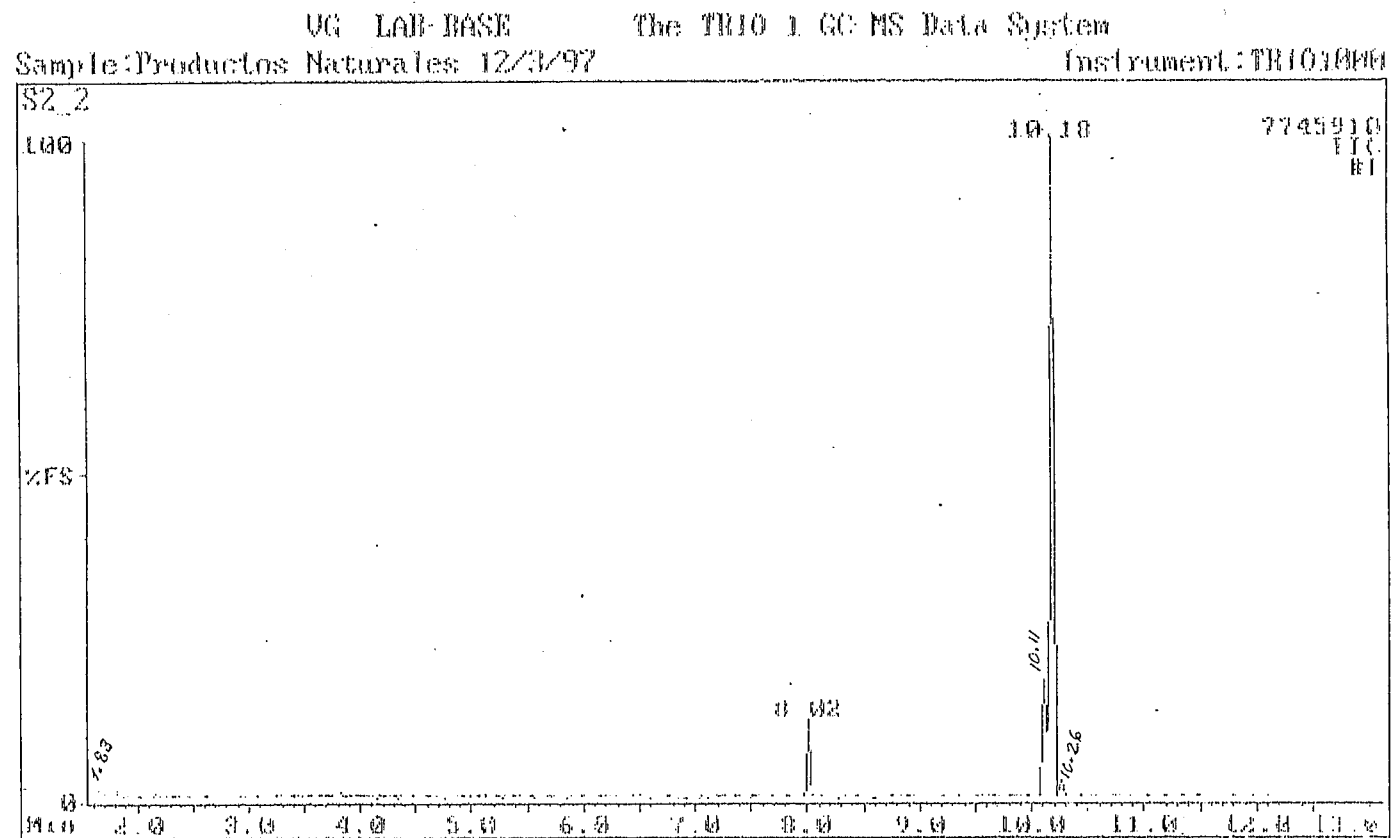
COMPUESTO	TIEMPO DE RETENCION
Acido octanoico	1.83
Acido palmítico	8.02
Acido oléico	10.11
Acido linoléico	10.20
Acido esteárico	10.26

#### CROMATOGRAMA N° 2

COMPUESTO	TIEMPO DE RETENCION
Patchouleno	3.68

En las figuras N° 6 - 11 se muestra los espectros de masa de cada uno de los metabolitos encontrados comparado con un patrón de referencia, observándose semejanza en el fraccionamiento de molécula.

CROMATOGRAMA Nº 1  
ACEITE FIJO DE *Schinus molle* L.



CROMATOGRAMA Nº 2  
ACEITE FIJO DE *Schinus molle* L.

UG LAB BASE The TRIO-1 GC/MS Data System  
Sample: Productos Naturales 12/3/97 Instrument: TRIO1000

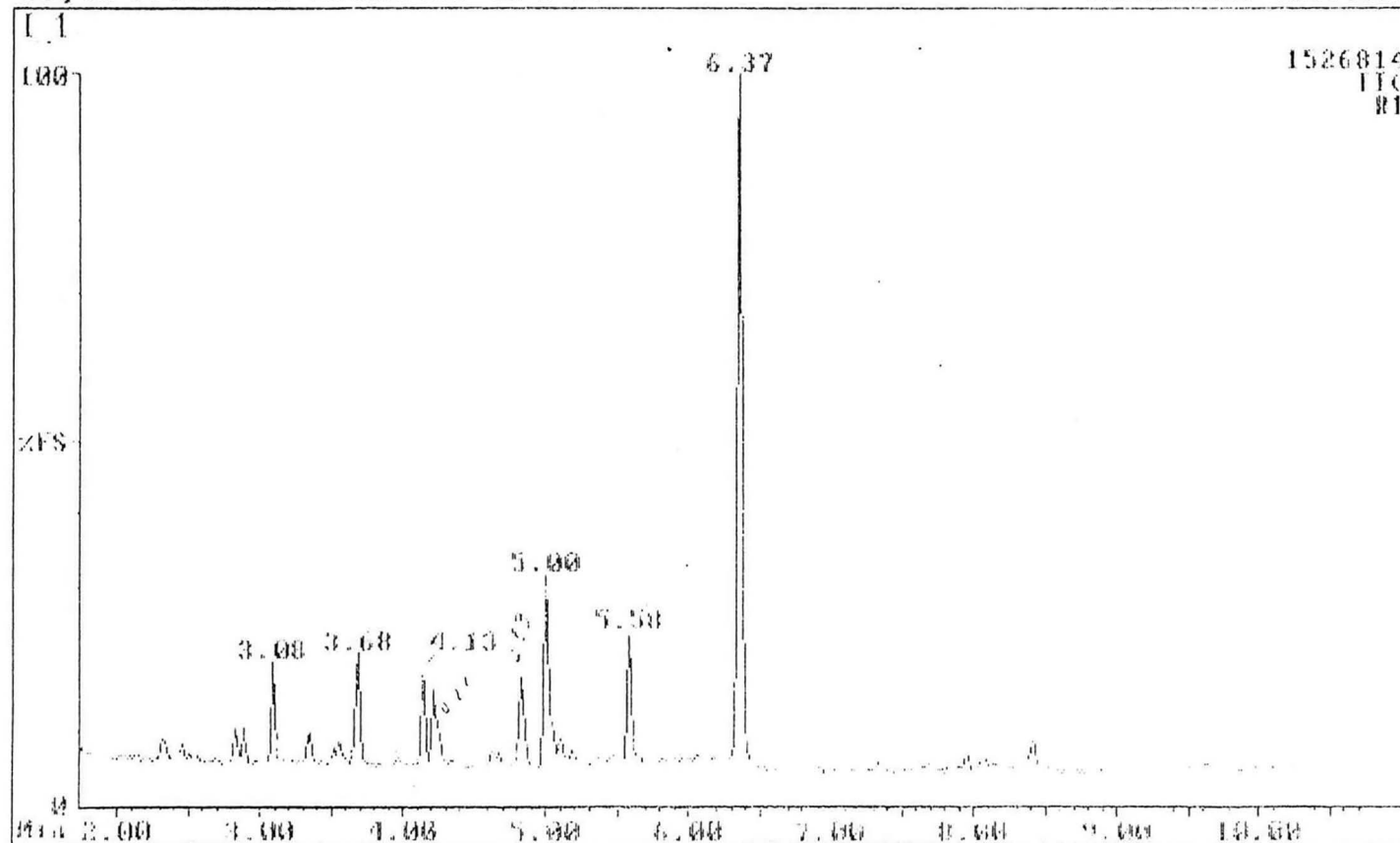


FIGURA Nº 6

ESPECTRO DE MASAS DE ACIDO OCTANOICO

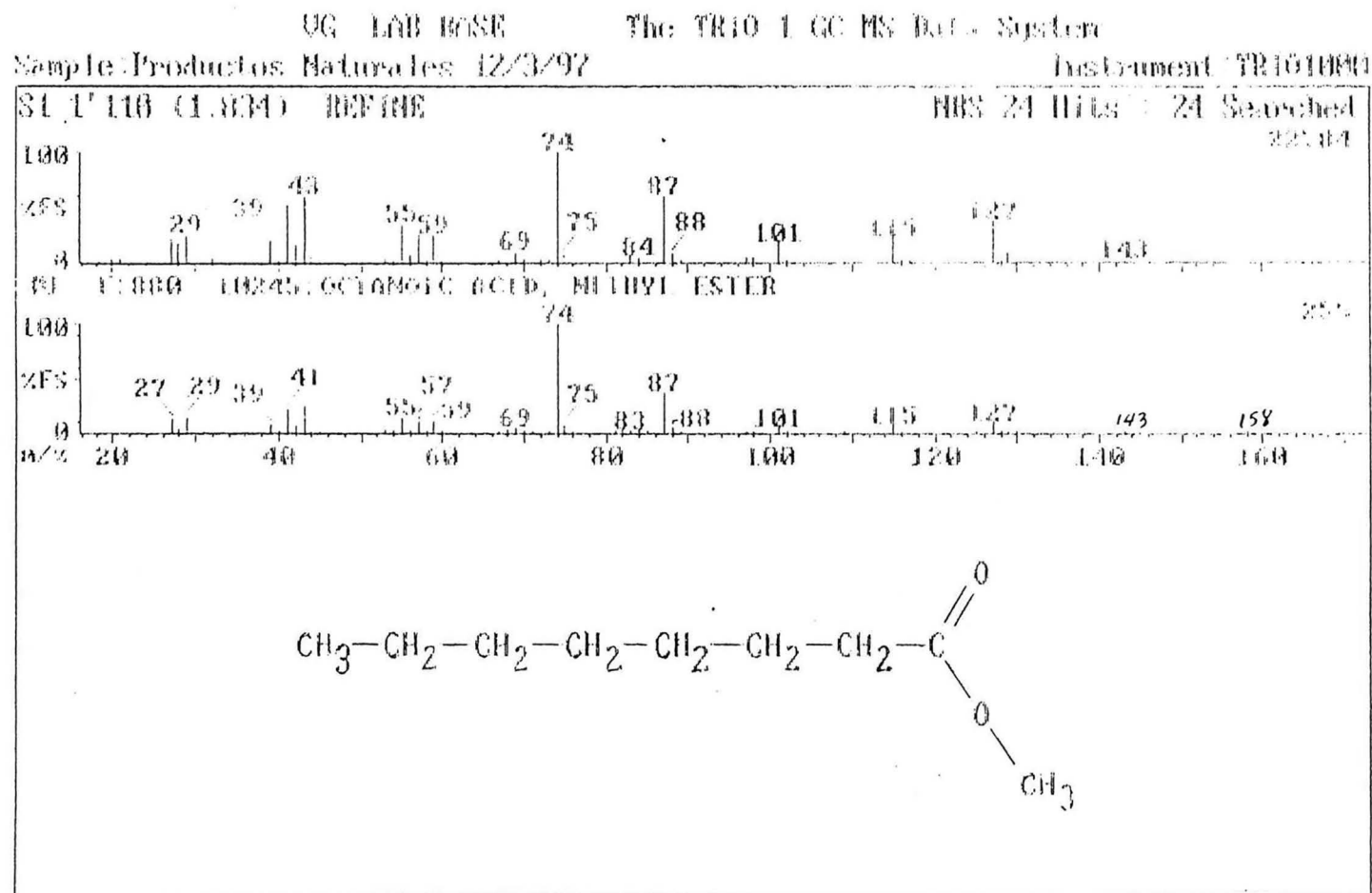


FIGURA Nº 7

ESPECTRO DE MASAS DE PACHOULENO

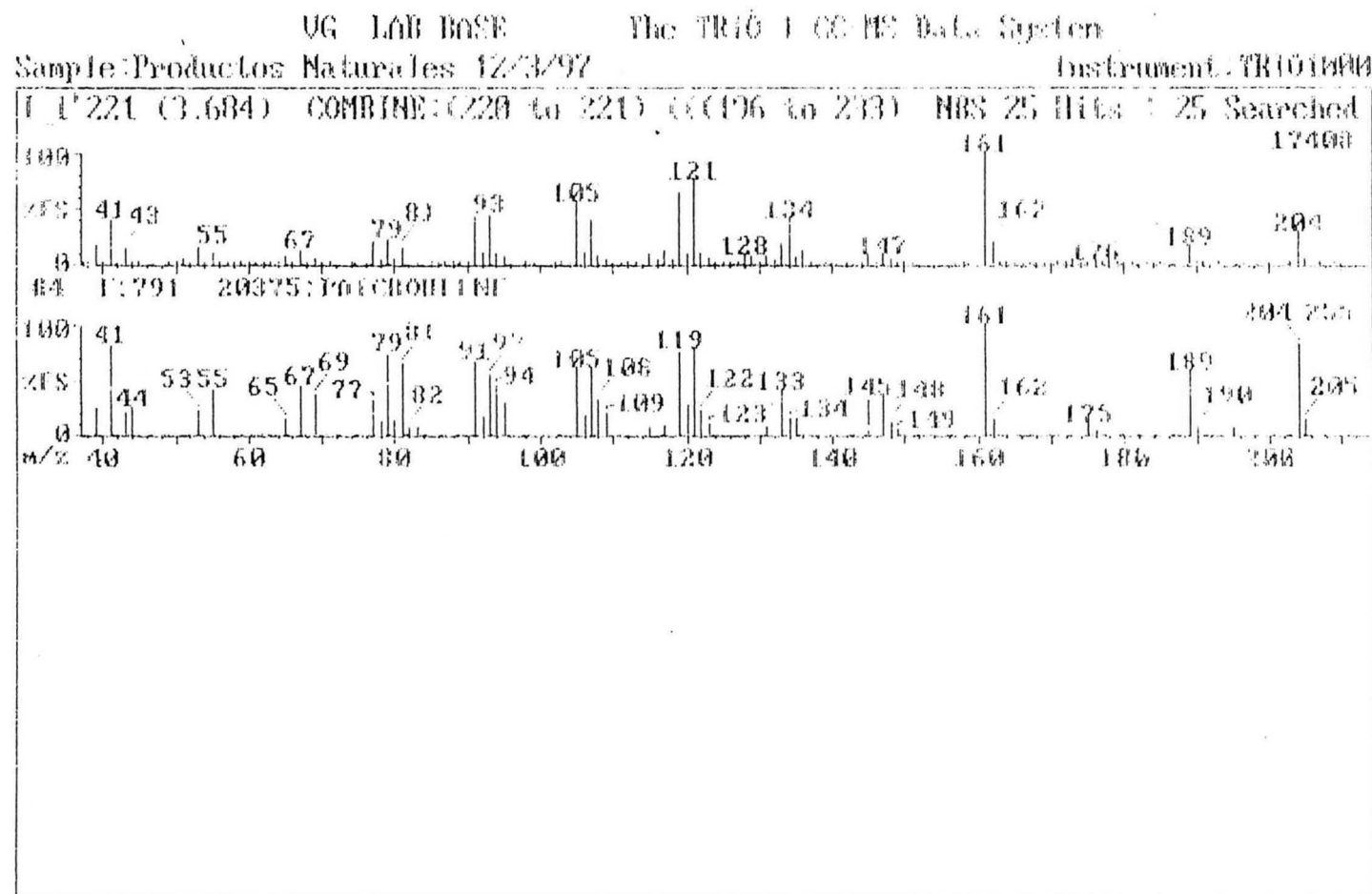


FIGURA Nº 8

ESPECTRO DE MASAS DE ACIDO PALMITICO

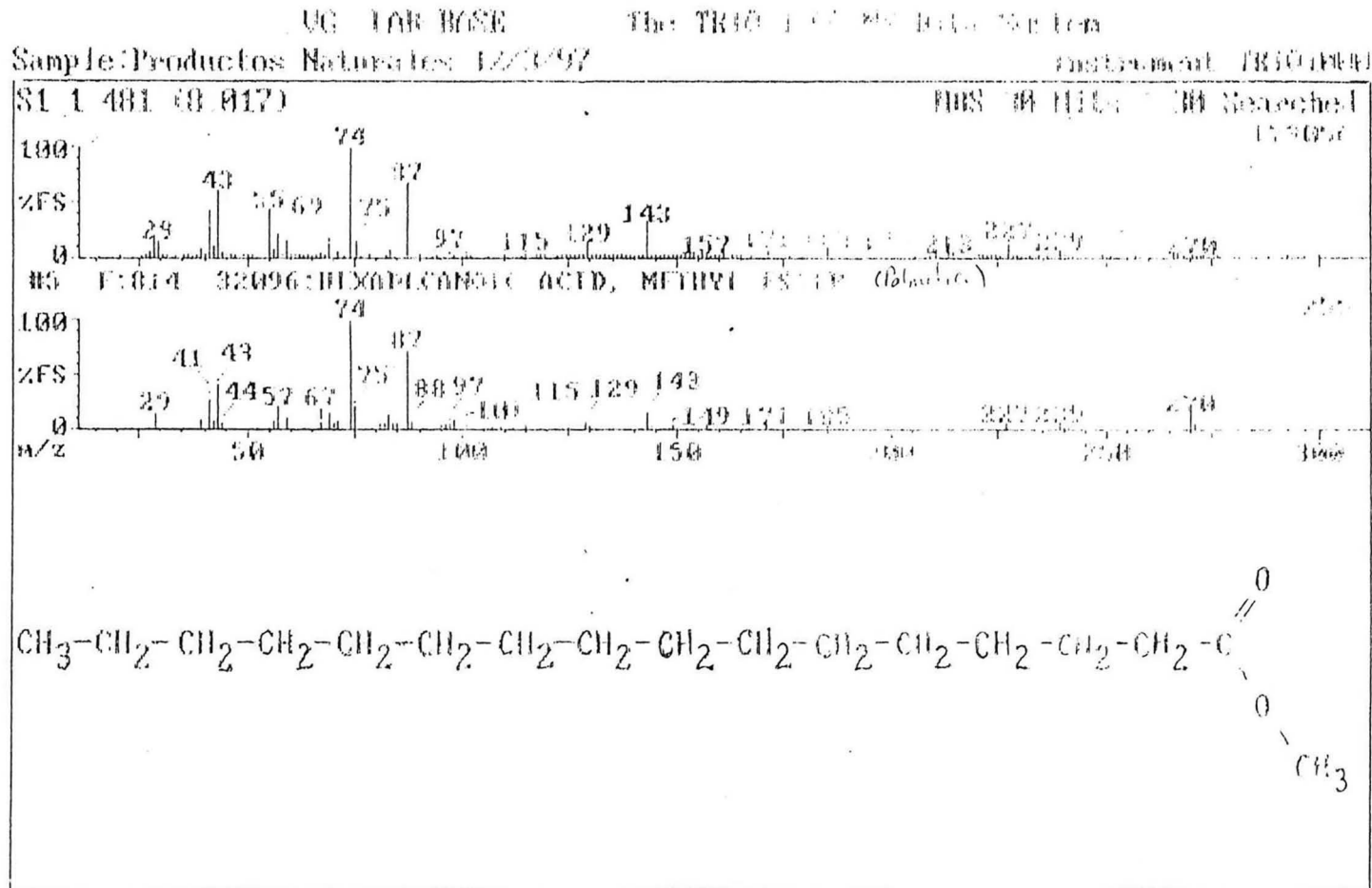




FIGURA Nº 9

ESPECTRO DE MASAS DE ACIDO OLEICO

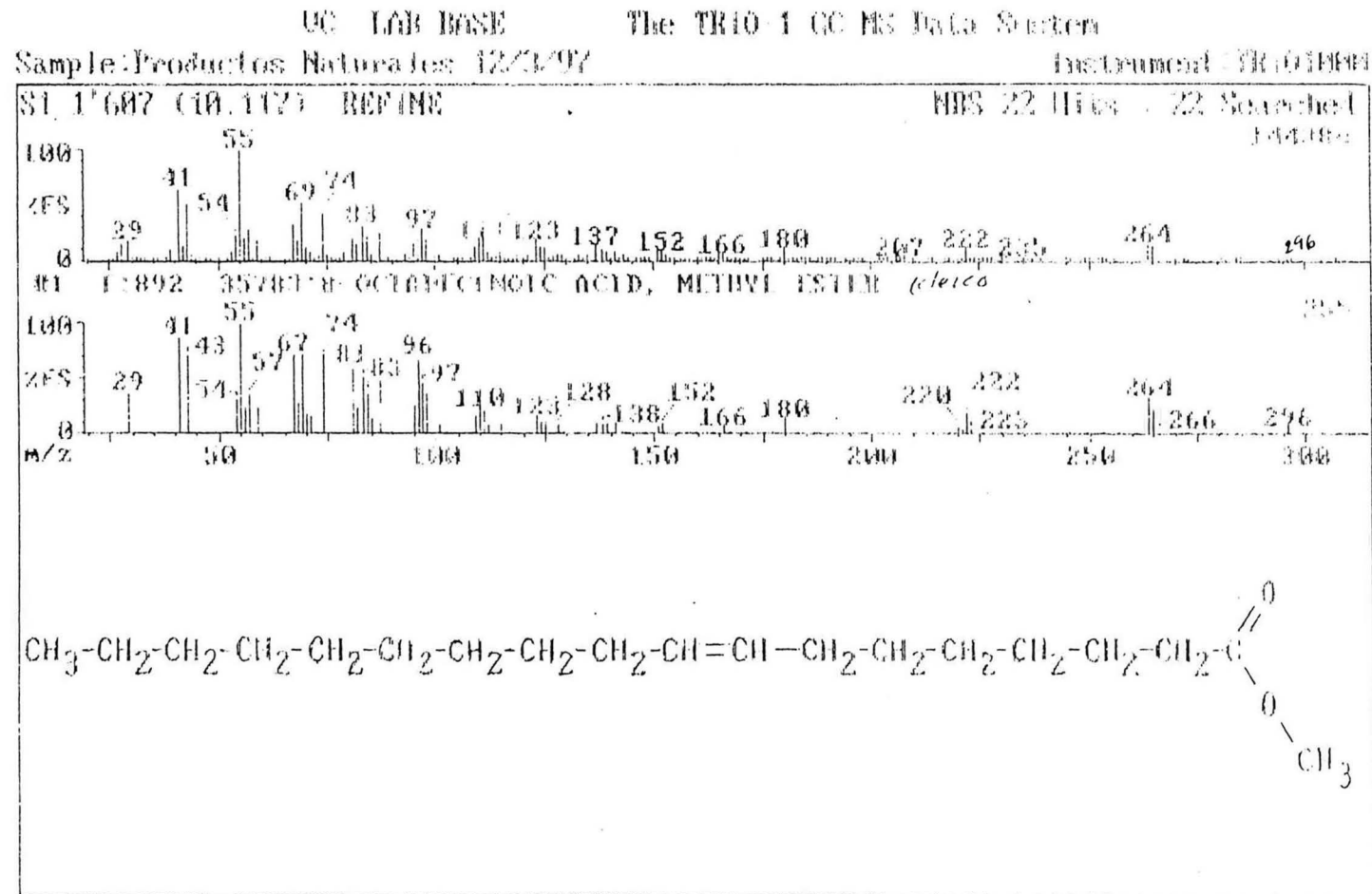


FIGURA Nº 10

ESPECTRO DE MASAS DE: ACIDO LINOLEICO

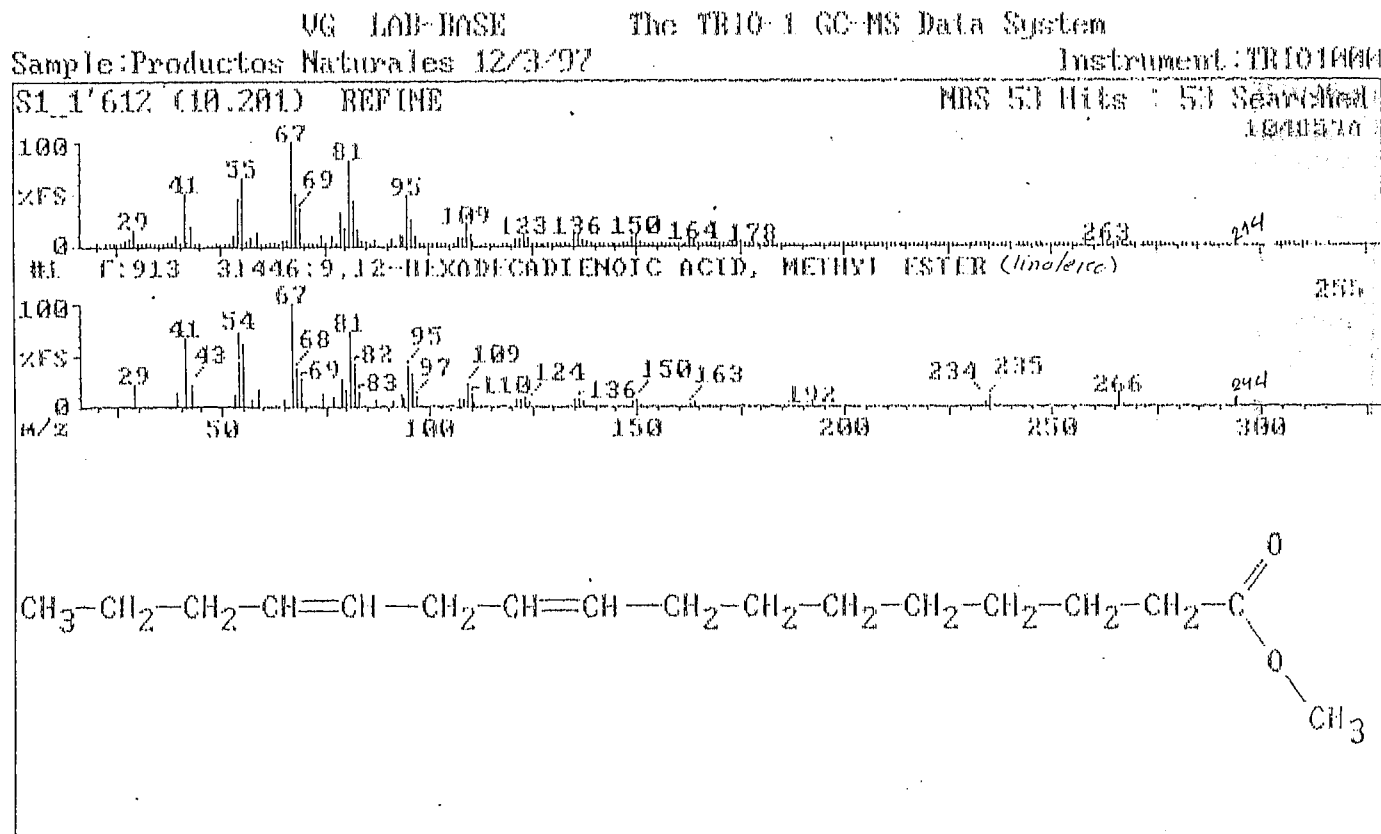
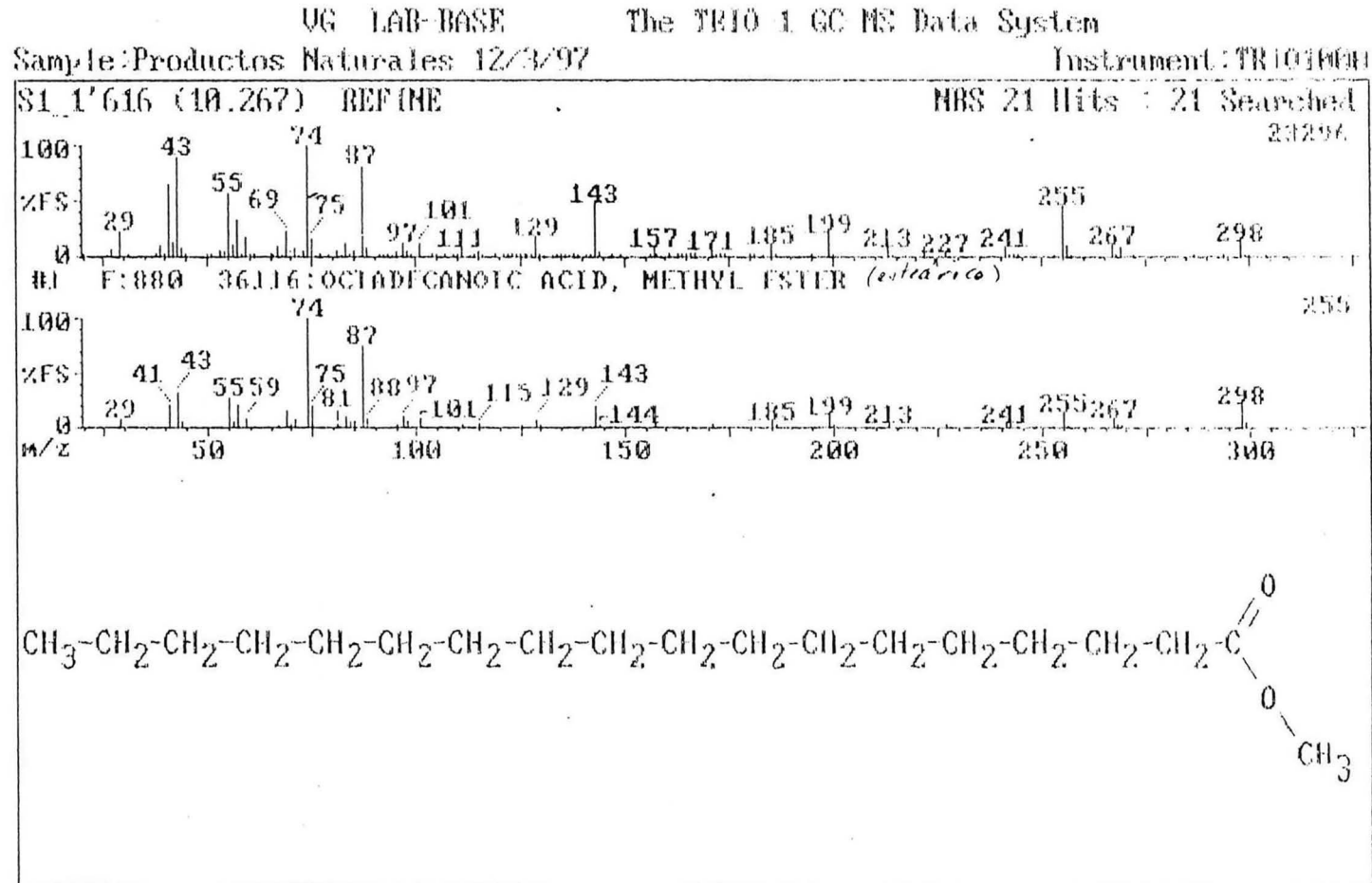


FIGURA Nº 11

ESPECTRO DE MASAS DE ACIDO ESTEARICO



En el cromatograma N° 3 correspondiente al aceite volátil se observan los tiempos de retención característico, en las condiciones de trabajo realizadas.

COMPUESTO	TIEMPO DE RETENCION
$\alpha$ - pineno	3.80
canfeno	4.12
$\beta$ - pineno	4.62
$\beta$ - mirceno	4.95
$\beta$ - felandreno	5.15
D - limoneno	5.55
3 - careno	5.68
$\alpha$ - cariofileno	13.30
$\alpha$ - cubebeno	13.47
spatulenol	16.50

En las figuras N° 12 - 21 se muestran los espectros de cada uno de los compuestos encontrados en el aceite volátil de *Schinus molle* L. comparado con un patrón de referencia, observándose semejanza en el fraccionamiento de cada molécula.

CROMATOGRAMA Nº 3  
ACEITE VOLATIL DE *Schinus molle* L.

UG LAB BASE      The TRI0-1 GC MS Data System  
Sample: Productos Naturales 11/3/97      Instrument: TRI010000

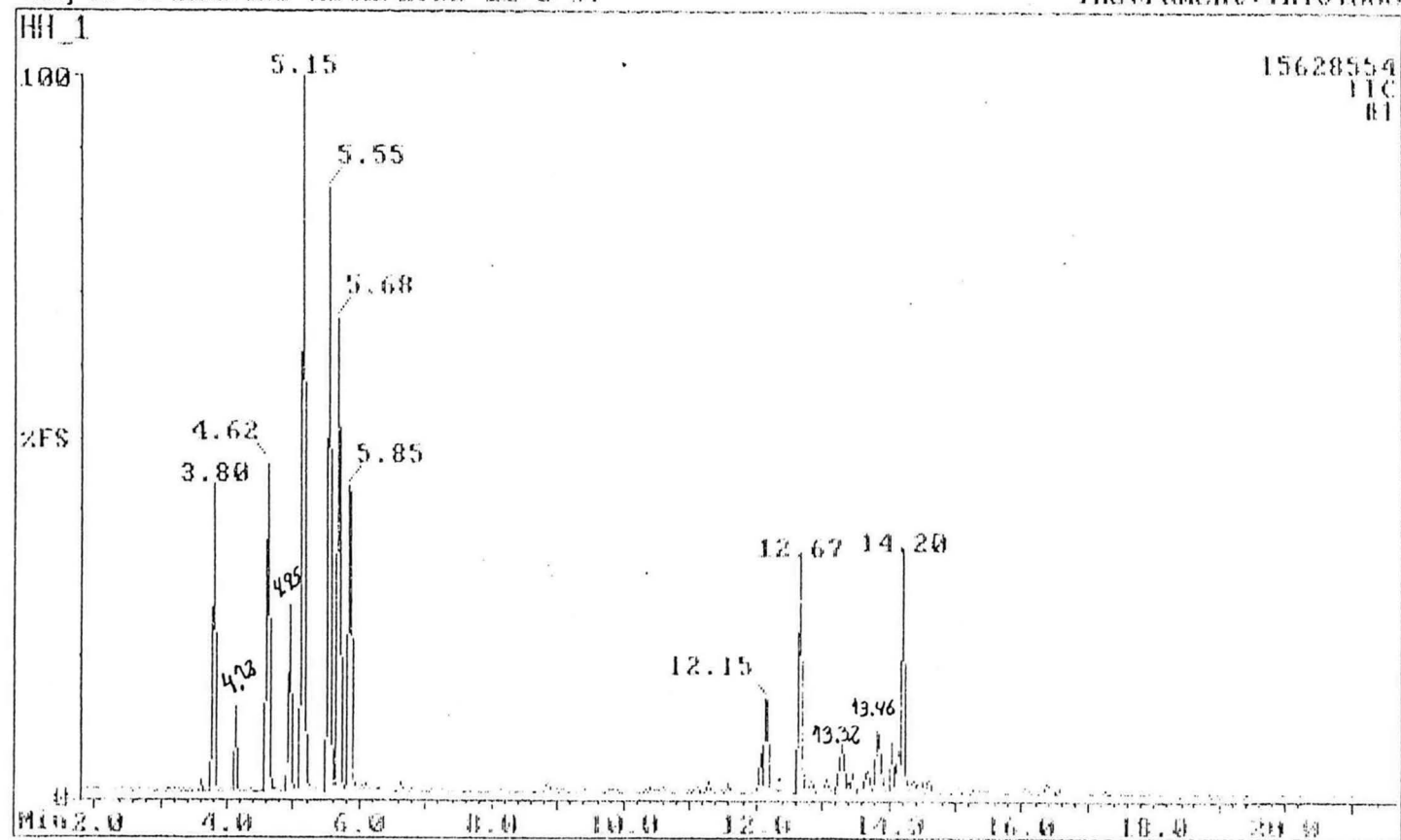


FIGURA Nº 12

ESPECTRO DE MASAS DE  $\alpha$ -PINENO

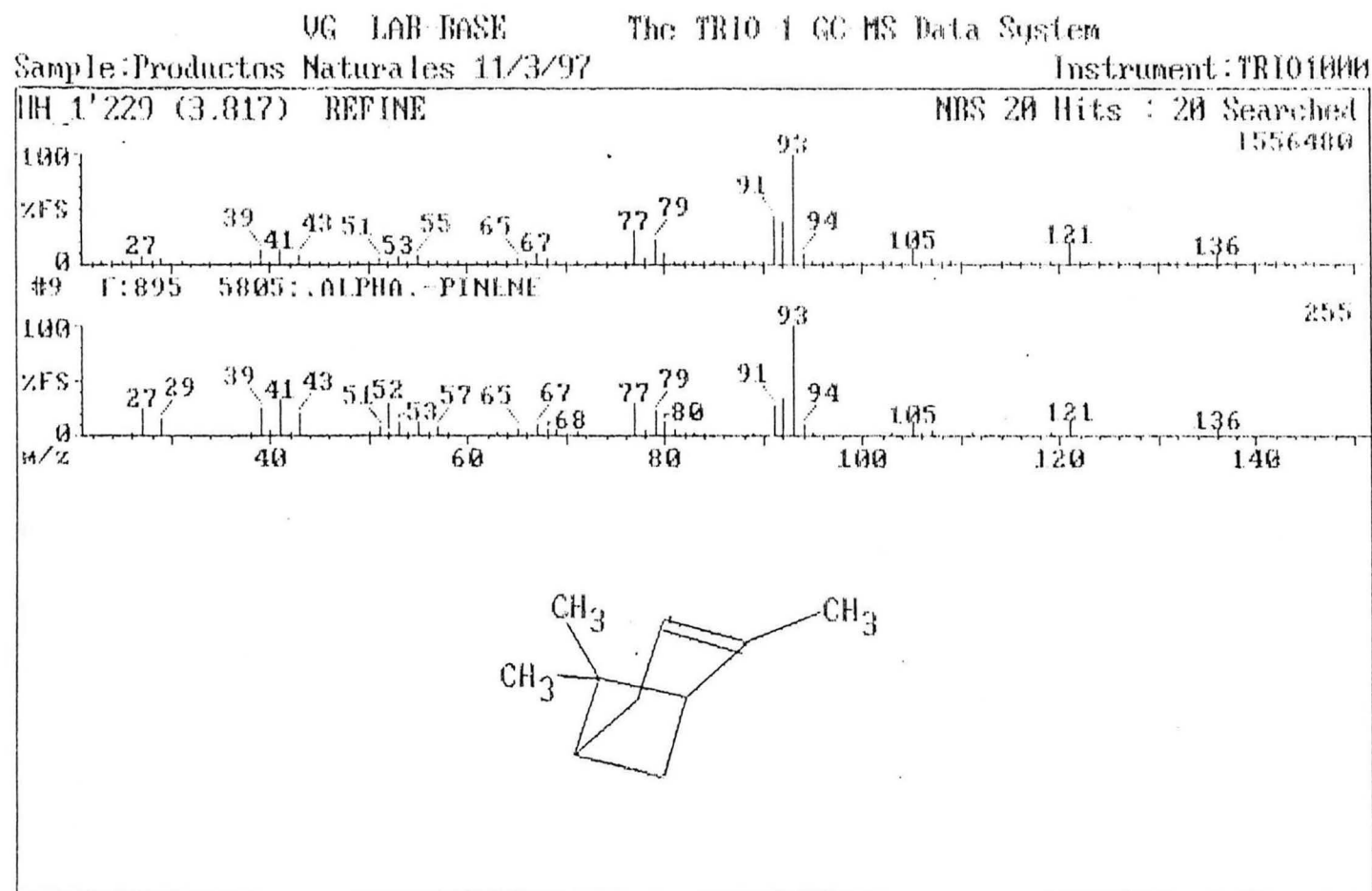


FIGURA Nº 13  
ESPECTRO DE MASAS DE CANFENO

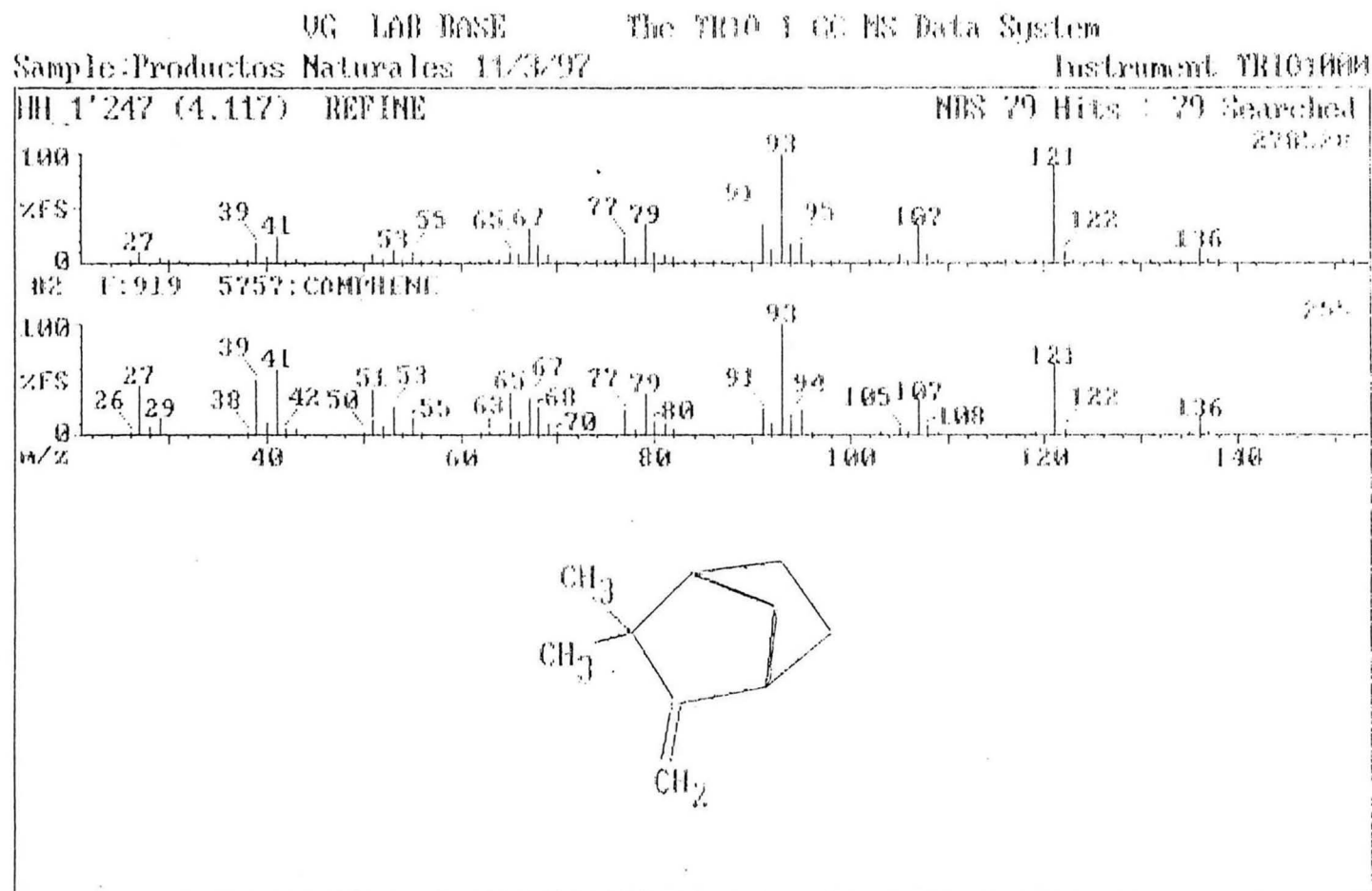


FIGURA Nº 14

ESPECTRO DE MASAS DE  $\beta$  - PINENO

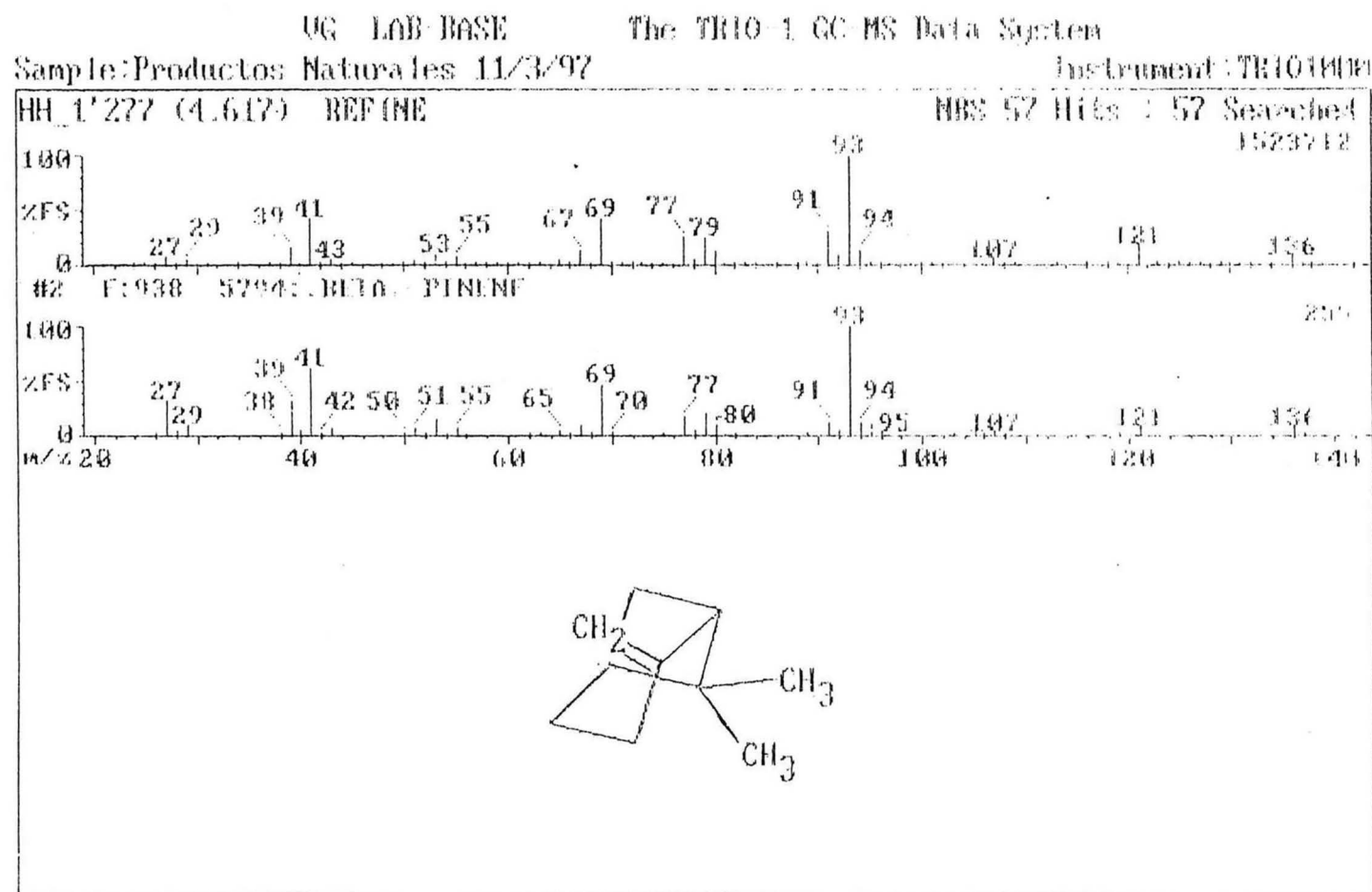




FIGURA Nº 15

ESPECTRO DE MASAS DE  $\beta$ -MIRCENO

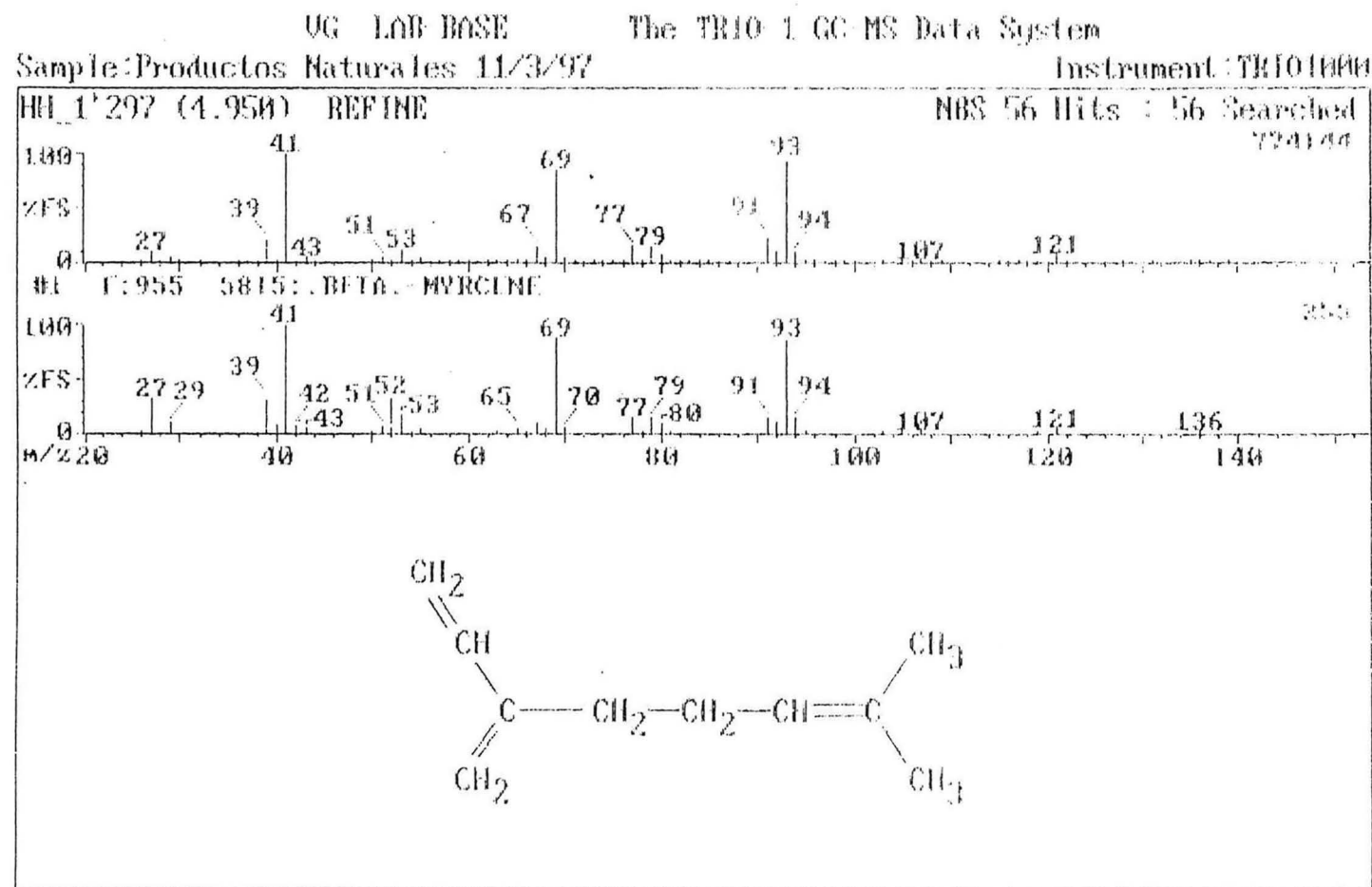


FIGURA N° 16

ESPECTRO DE MASAS DE  $\beta$ -FELANDRENO

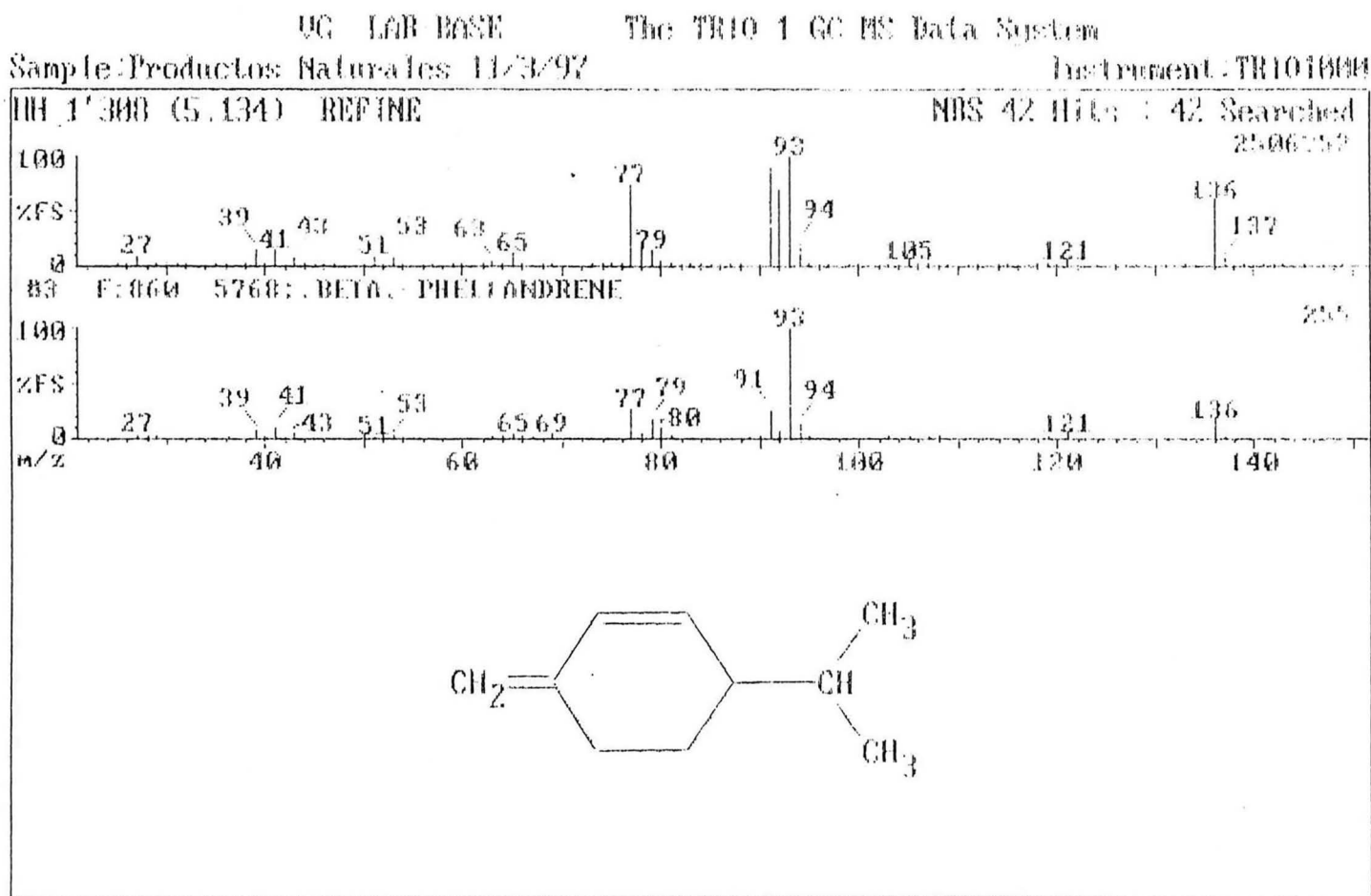


FIGURA N° 17

ESPECTRO DE MASAS DE D-LIMONENO

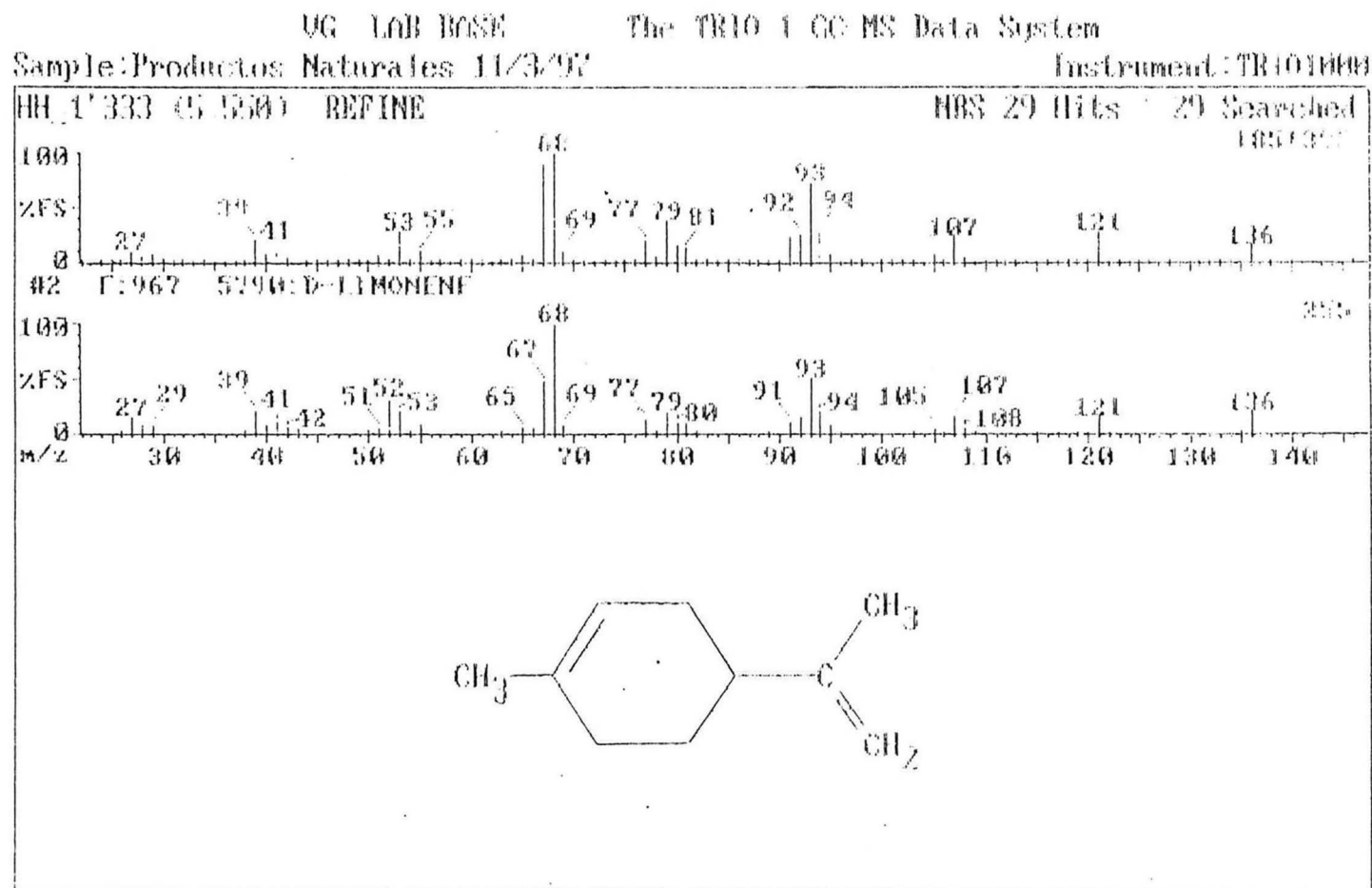


FIGURA Nº 18

ESPECTRO DE MASAS DE 3-CARENO

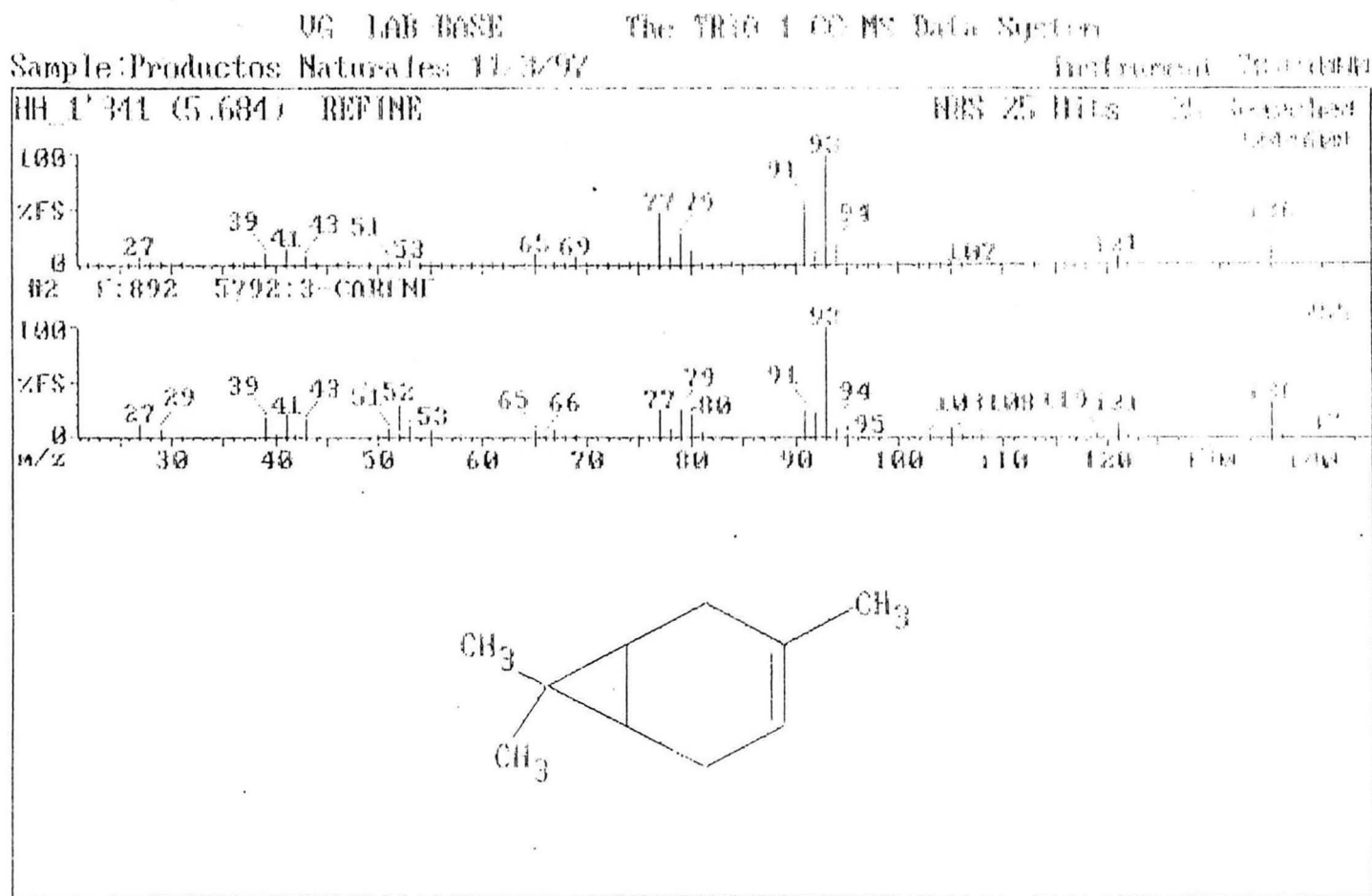


FIGURA Nº 19

ESPECTRO DE MASAS DE  $\alpha$ -CARIOFILENO

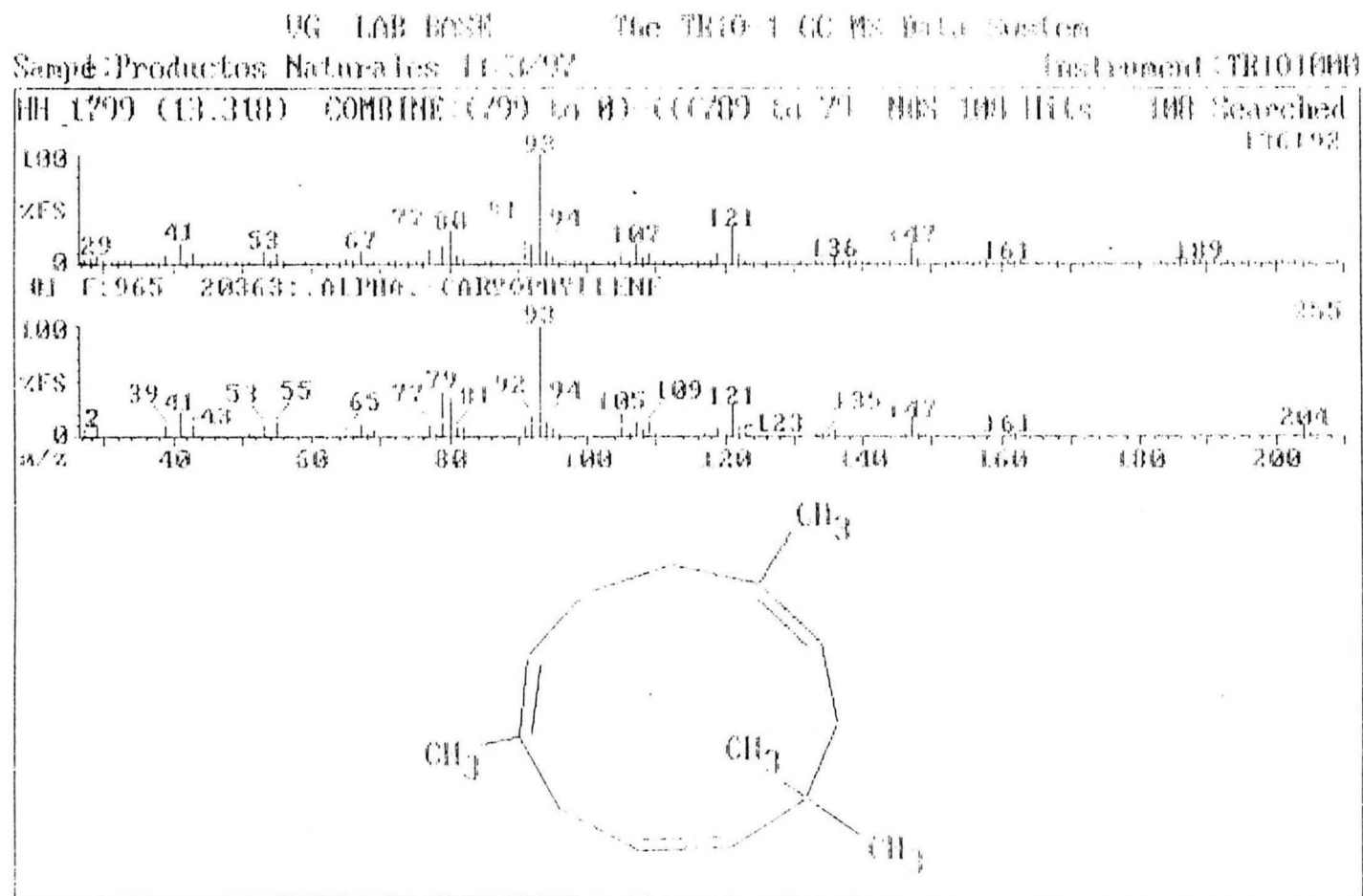


FIGURA No 20

ESPECTRO DE MASAS DE  $\alpha$  - CUBEBENO

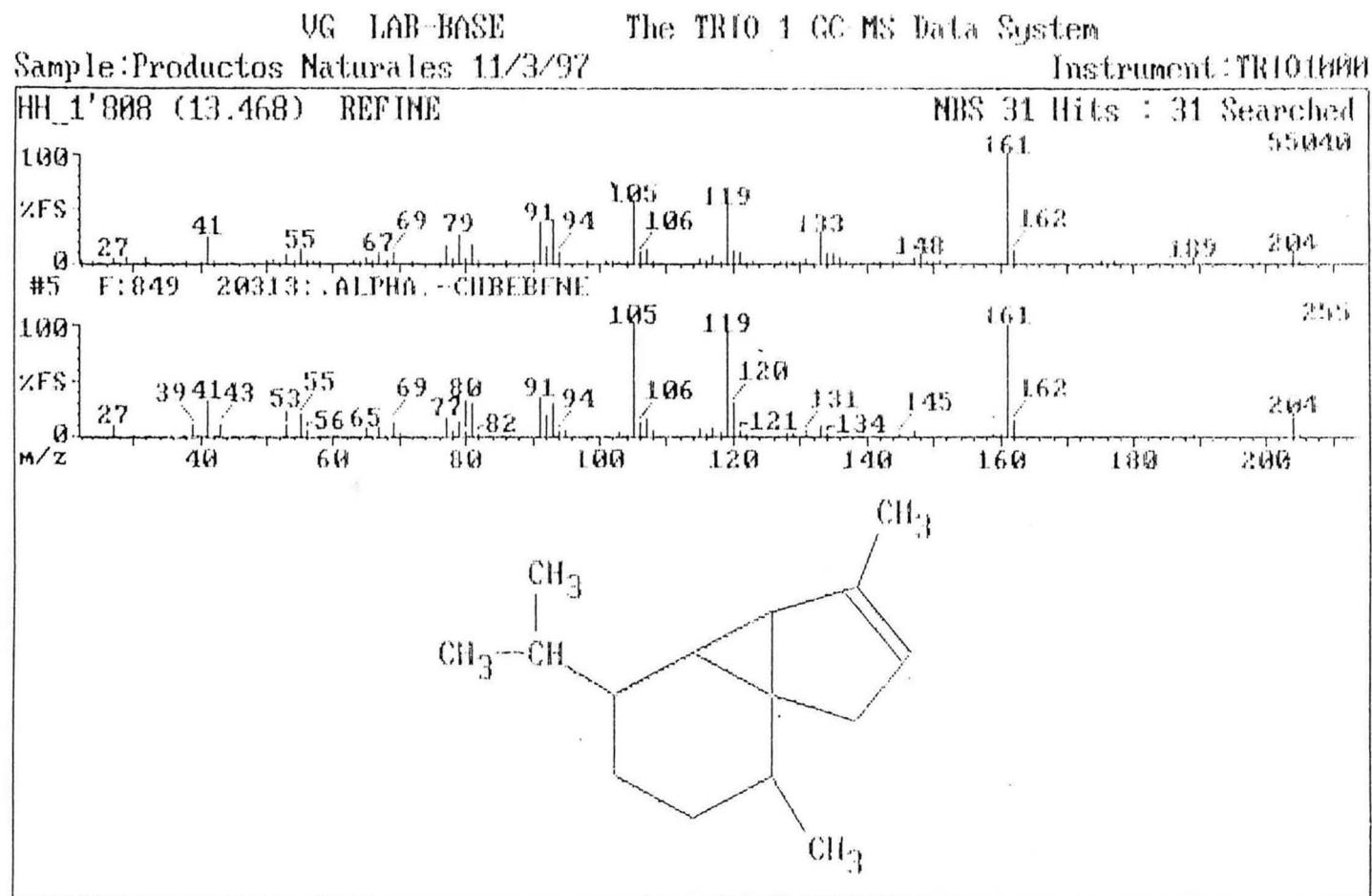
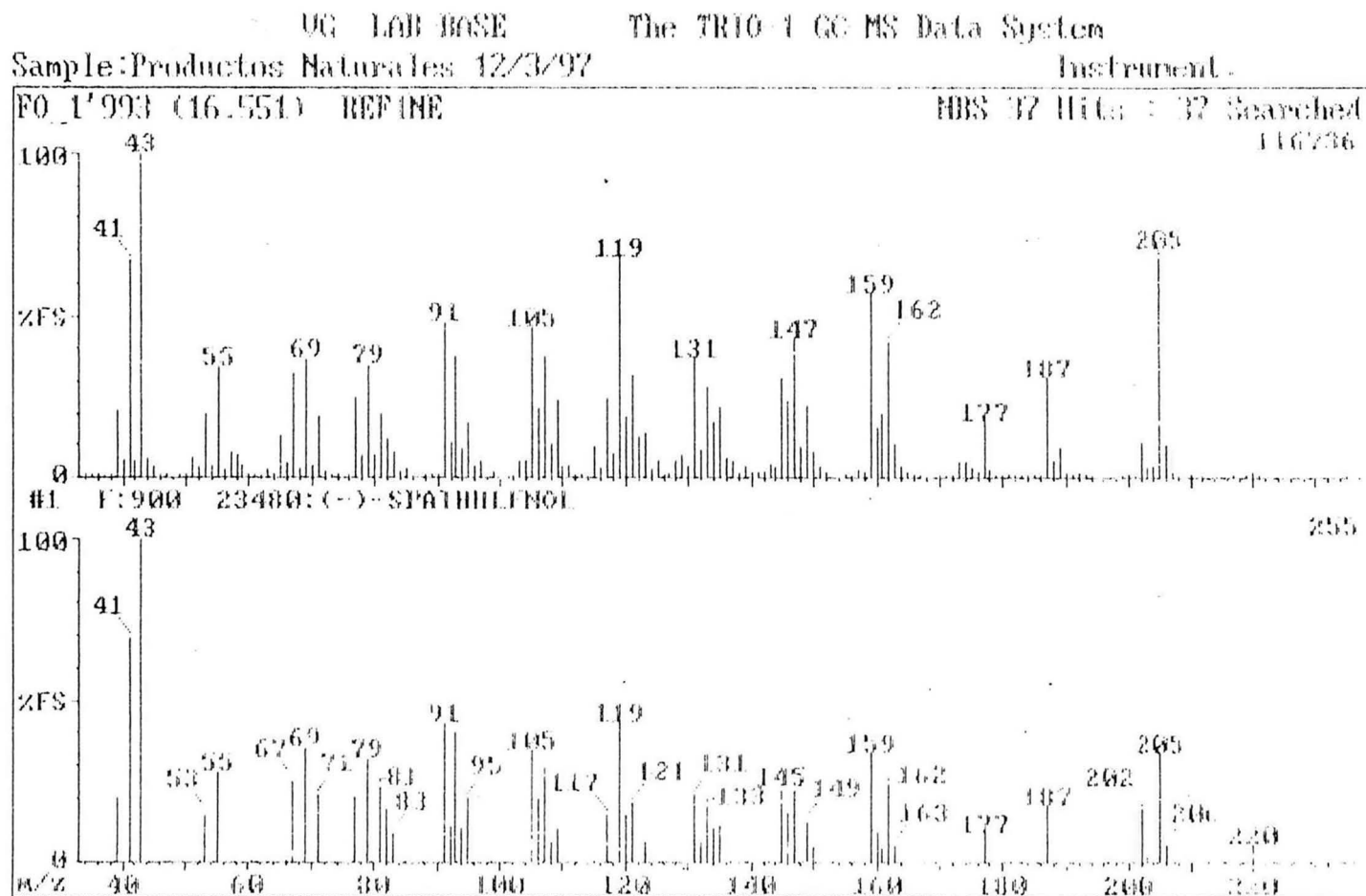


FIGURA Nº 21

ESPECTRO DE MASAS DE SPATULENOL



CUADRO Nº 8  
PRUEBA ANTIMICROBIANA

BACTERIAS	HALOS DE INHIBICION (mm)	SENSIBILIDAD
GRAMPOSITIVAS		
IA <i>Escherichia coli</i>	14	poco sensible
IB <i>Escherichia coli</i>	13	poco sensible
IC <i>Escherichia coli</i>	14	poco sensible
ID <i>Enterobacter aerogenes</i>	12	poco sensible
IE <i>Enterobacter aerogenes</i>	13	poco sensible
IF <i>Enterobacter hafnia</i>	13	poco sensible
IG <i>Acinetobacter sp.</i>	14	poco sensible
IH <i>Citrobacter sp.</i>	13	poco sensible
IJ <i>Klebsiella pneumoniae</i>	11	resistente
IK <i>Klebsiella pneumoniae</i>	10	resistente
IL <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	00	resistente
MI <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	00	resistente
IN <i>Proteus vulgaris</i>	13	poco sensible
IO <i>Shigella flexneri</i>	08	resistente
IP <i>Salmonella paratiphy</i>	00	resistente
GRAM POSITIVAS		
IIA <i>Staphylococcus aureus</i>	24	sensible
IIB <i>Staphylococcus aureus</i>	30	sensible
IIC <i>Staphylococcus aureus</i>	20	sensible
IID <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6632	35	sensible
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	25	sensible



#### 4.7.0. DETERMINACION ANTIMICROBIANA

En la evaluación de la actividad antimicrobiana, se considera a las cepas seleccionadas como sensibles, poco sensibles y resistentes (Cuadro N° 8).

En las figuras N° 22 - 30, se muestran los diferentes resultados obtenidos, correspondientes a los halos de inhibición por acción del aceite volátil frente a las cepas ensayadas.

FIGURA N° 22

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE VOLATIL  
Cepa *Escherichia coli* (IA)

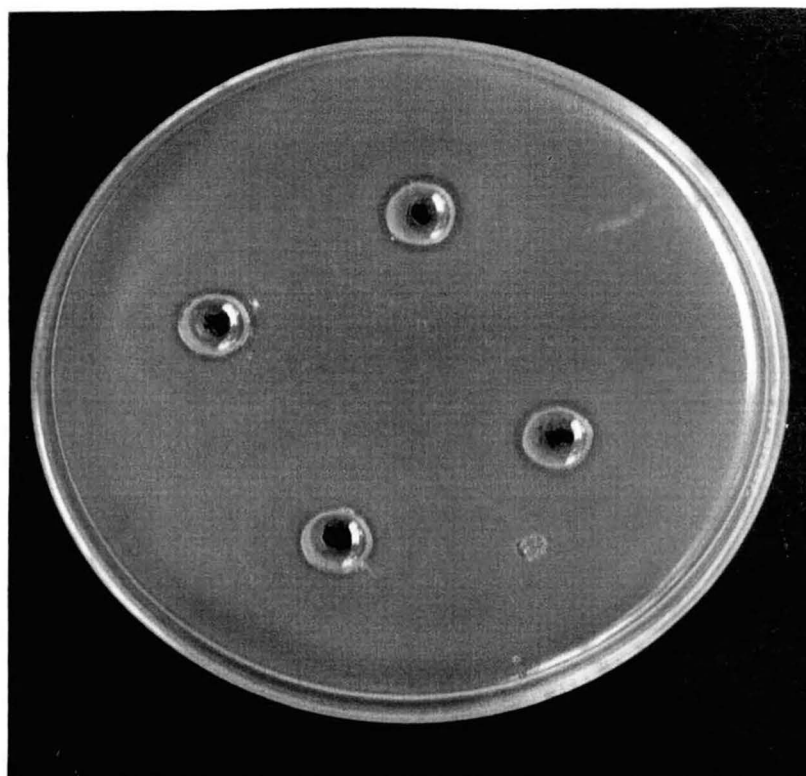


FIGURA N° 23  
ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE VOLATIL  
Cepa *Enterobacter aerogenes* (IE)

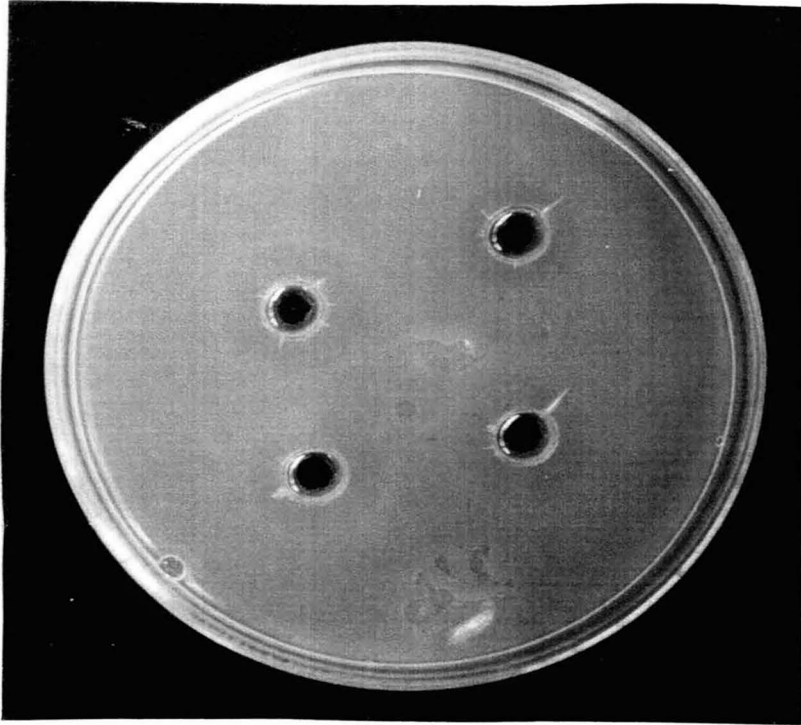


FIGURA N° 24  
ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE VOLATIL  
Cepa *Enterobacter hafnia* (IF)

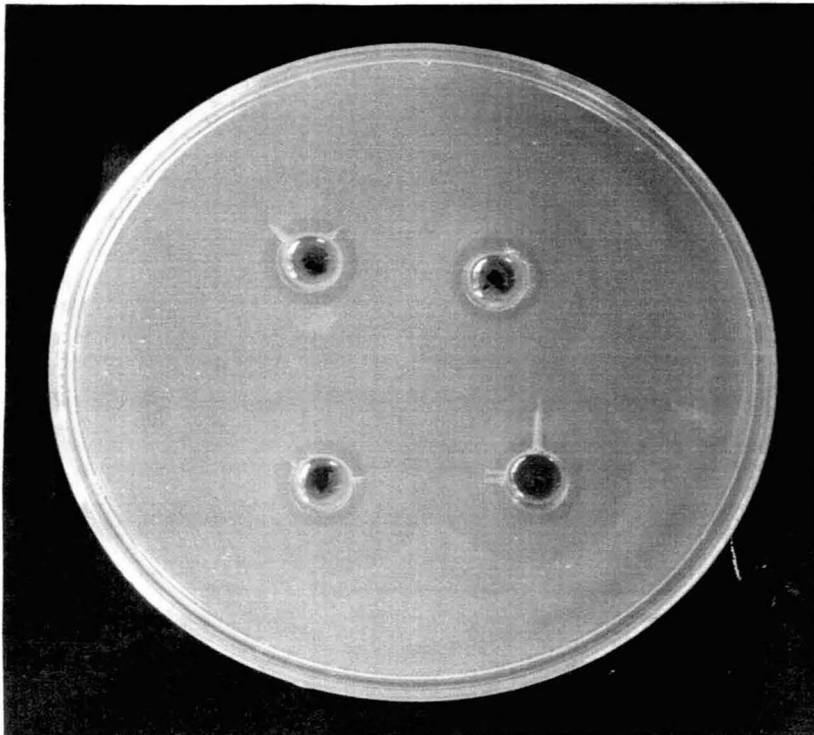


FIGURA Nº 25

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE VOLATIL

Cepa *Acitenobacter* sp. (IG)

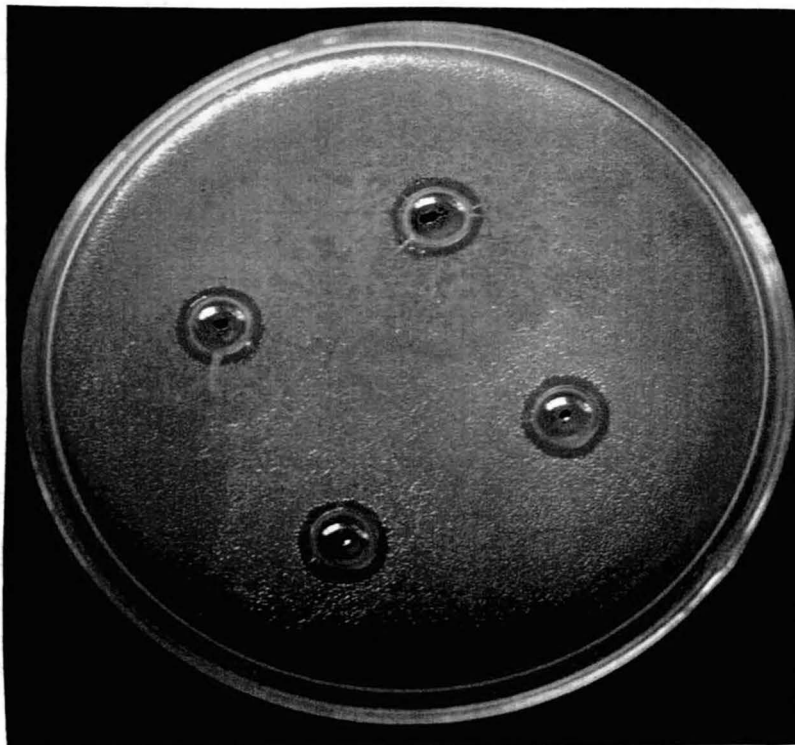


FIGURA Nº 26

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE VOLATIL

Cepa *Citrobacter* sp (IH)

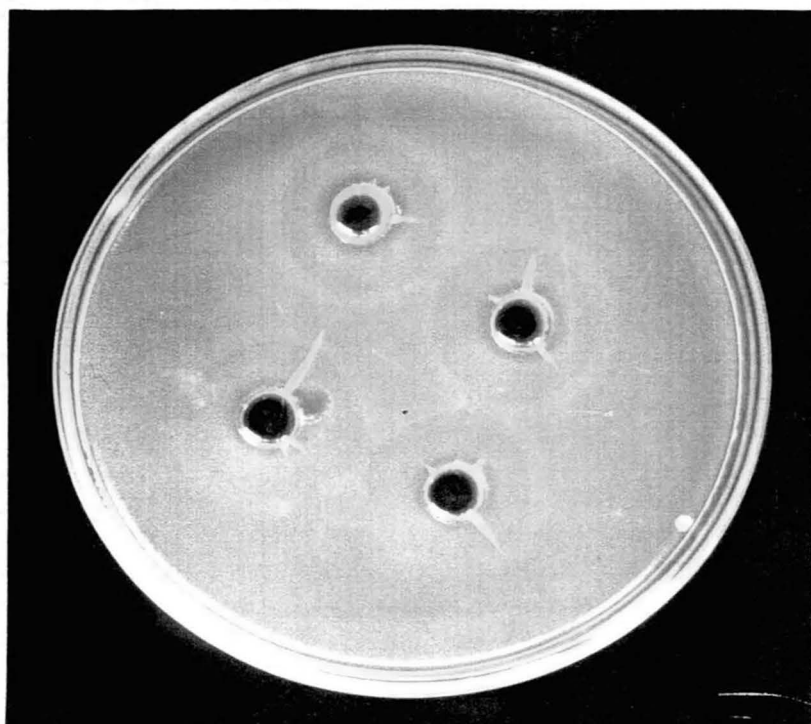


FIGURA Nº 27  
ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE VOLATIL  
Cepa *Salmonella paratiphy* (IP)

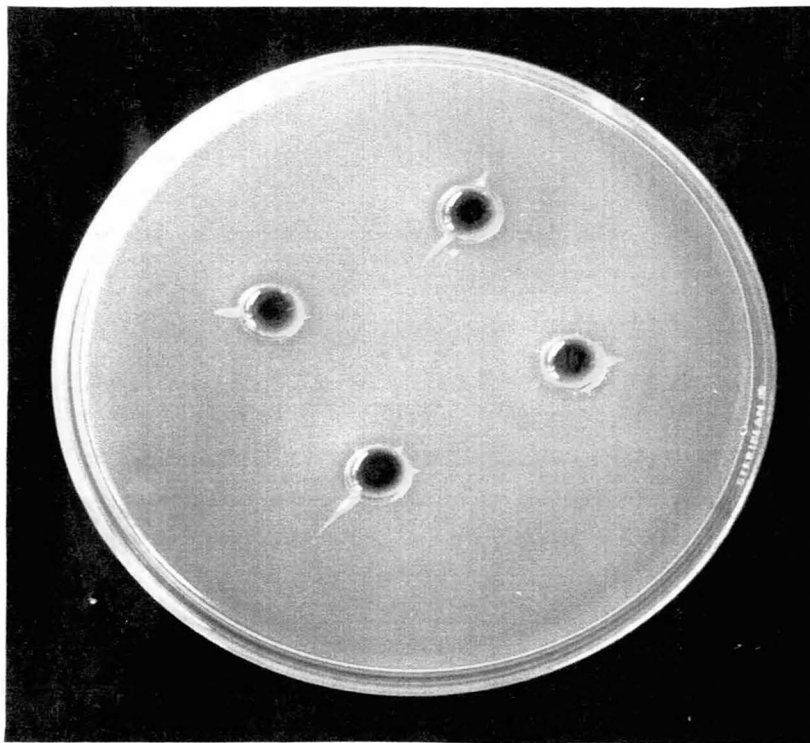


FIGURA Nº 28  
ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE VOLATIL  
Cepa *Staphylococcus aureus* (IIA)

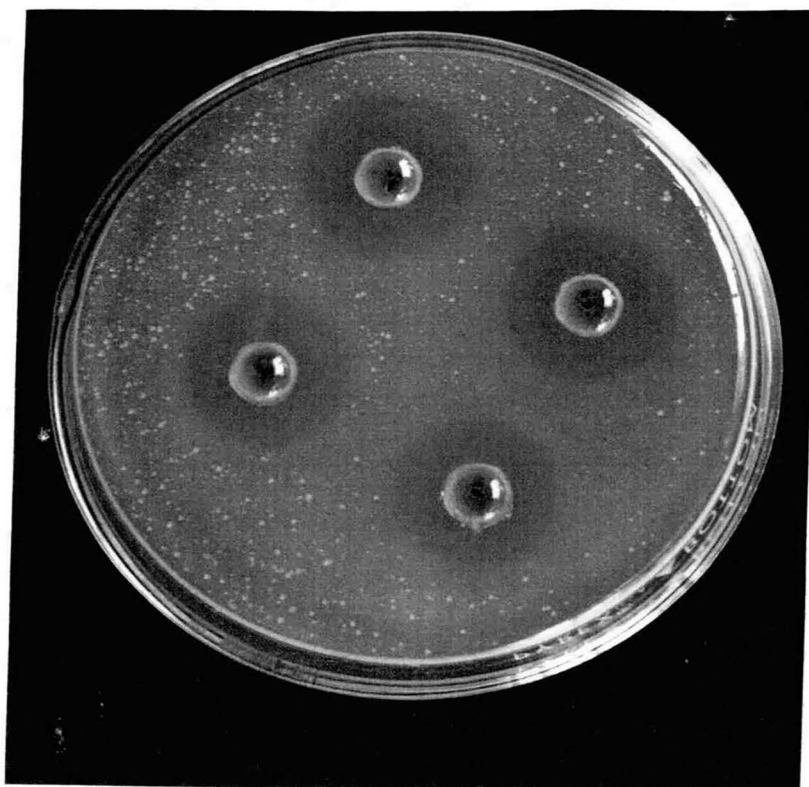


FIGURA Nº 29  
ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE VOLATIL  
*Cepa Bacillus subtilis* (IID)

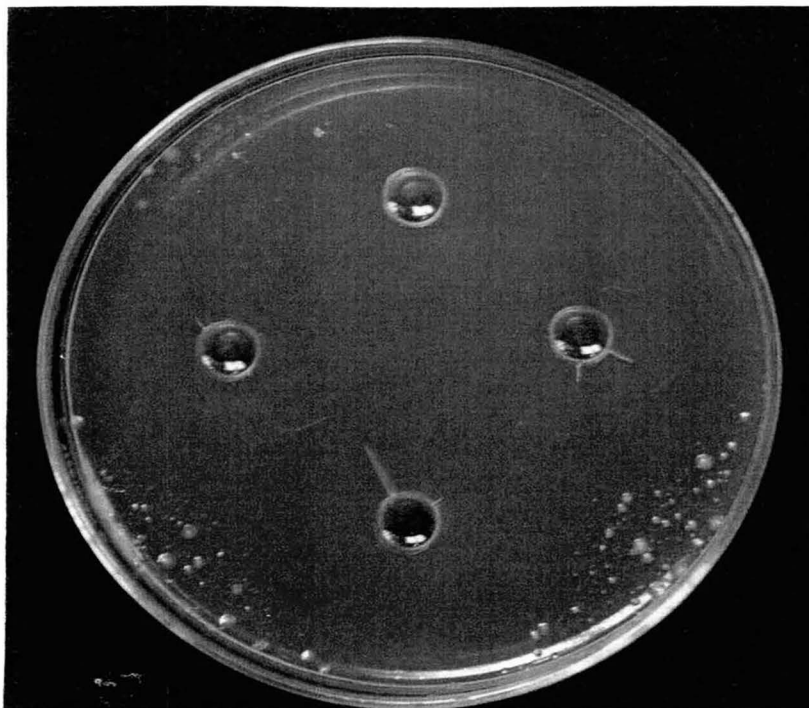
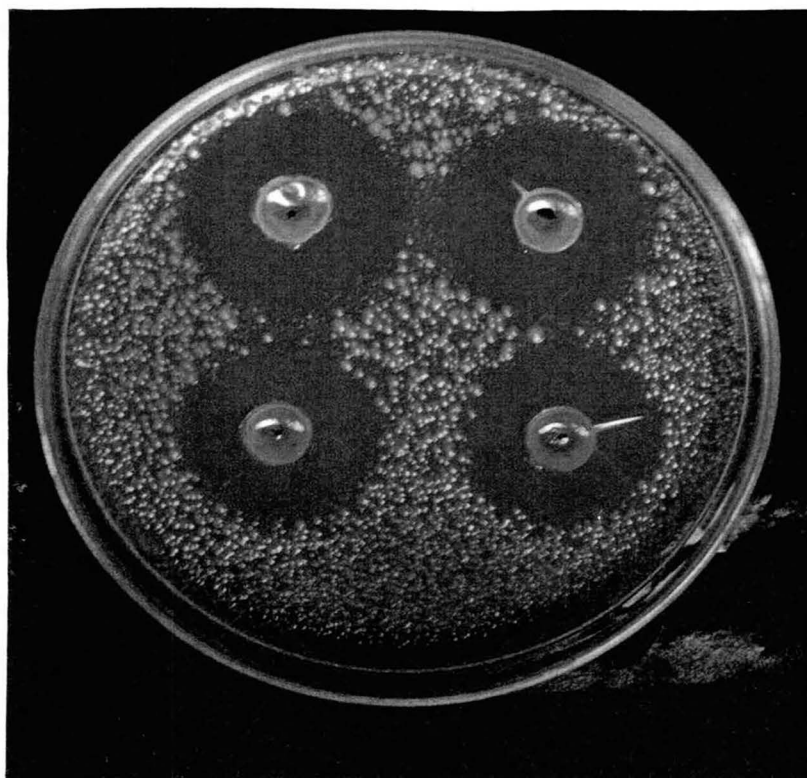


FIGURA Nº 30  
ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE VOLATIL  
*Micrococcus luteus* ATCC 9341



## **V DISCUSION DE RESULTADOS**

### **5.1.0. ANALISIS DE LA DROGA**

Las características morfológicas observadas en la especie de estudio coinciden con los reportados en la bibliografía <sup>1,3,18,41</sup> En el análisis microscópico se han observado estructuras específicas tipo vescículas que contienen el aceite volátil, denominadas bolsas esquizógenas.

Dentro de los parámetros de calidad de la droga, tienen importancia la determinación de materias extrañas, que pueden ser contaminantes orgánicos (partes de la misma planta; epicarpio, hojas, pedúnculo, talamo, racimo) y/o elementos inorgánicos. De éstas últimas, principalmente provenientes de la tierra, que incrementan los niveles de cenizas totales.

El porcentaje de humedad recomendado es 10 %, en la droga<sup>5,11,23,27</sup> se ha determinado 12 % este mayor porcentaje puede deberse a la característica del fruto de presentar azúcar en su superficie, por lo que tiende a hidratarse. Lo que implica que debe almacenarse en condiciones adecuadas de humedad y temperatura, para evitar, condiciones favorables para el crecimiento de microorganismos.

La determinación de sustancias solubles en agua y alcohol, es un parámetro importante que orienta sobre el grado de solución hidroalcohólica a utilizar para la preparación de los extractos <sup>23,27</sup>.

### 5.2.0. MARCHA FITOQUIMICA PRELIMINAR

Los frutos de *Schinus molle* L., dan reacciones generales marcadamente positivas que evidencian la presencia de los aceite fijo, aceite volátil y azúcares que serían los componentes mayoritarios. Son poco significado los ensayos para otros metabolitos secundarios.

Las reacciones de reconocimiento para aceites fijo y volátil, confirman los resultados antes mencionados <sup>16,38,45</sup>.

### 5.3.0. OBTENCION Y ANALISIS DE LOS ACEITES

Para una adecuada obtención de aceites es necesario trabajar de manera secuencial; iniciando con la recolección de los frutos hasta la hidrodestilación, con la finalidad de evitar cualquier alteración y/o modificación de la composición del aceite. Los rendimientos obtenidos son bastante similares a los reportados en la bibliografía, así como las características organolépticas y físicas <sup>8,21,22</sup>.

En la determinación de la acidez se obtiene un valor mayor al permitido para los aceites fijos <sup>16,38,39</sup>, esto puede deberse al método empleado para la obtención, en el cual el calentamiento incrementaría los ácidos grasos libres.

Los otros parámetros determinados están dentro de lo establecido<sup>16</sup> y por el índice de iodo determinado se puede decir que los aceites fijos del *Schinus molle* L. son semisecantes que contienen pocos ácidos grasos insaturados.

Los resultados de los análisis organolépticos y físico del aceite volátil se asemeja a los reportados en otros trabajos <sup>8,21,22</sup> ; no se tiene referencias respecto al análisis químico, por tanto los resultados obtenidos son referenciales al no existir factores de comparación y/o normas establecidas para la droga estudiada.

#### **5.4.0. CARACTERIZACION DE ACEITES**

En la caracterización de cada una de las fracciones de los aceites mediante análisis cromatográfico y espectrométrico se ha encontrado principios activos ya reportados en la bibliografía <sup>8</sup> .

#### **5.5.0. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA**

La existencia de metabolitos de diferente naturaleza con actividad sin los riesgos de resistencia que presentan los antibióticos, genera la búsqueda permanente de agentes antimicrobianos en vegetales superiores. La bibliografía reporta que los componentes oxigenados (anetol, eugenol) de los aceites volátiles serían los responsables de esta actividad, la droga en estudio contiene este tipo de compuestos, razón por la cuál muestra actividad antimicrobiana, principalmente frente a bacterias gram positivas y a algunas gram negativas.



## VI CONCLUSIONES

Después de realizar el estudio de los frutos de *Schinus molle* L. llegamos a las siguientes conclusiones:

- 1.- En el análisis de la droga se han encontrado 12 % de humedad, 4.35 % de materias extrañas, 7.2 % de cenizas totales, 30.44 % de sustancias solubles en agua y 60.29 % de sustancias solubles en alcohol.
- 2.- El fruto de *Schinus molle* L. estudiado contiene 1.2 % de aceite fijo que presenta punto de solidificación a 28 °C, punto de fusión a 52.8 °C, índice de acidez 2.8, índice de saponificación 182, e índice de iodo 108 . Se han identificado ácido octanóico, palmítico, esteárico, oléico, linoléico y patchouleno.
- 3.- El rendimiento de los frutos estudiados de *Schinus molle* L. en aceite volátil es 2.87 %, que presenta: 1.45 de índice de refracción, 0.8420 de densidad, índice de acidez 2.4, índice de éster 3.1 e índice de fenoles 2.85. Se han identificado  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -mirceno,  $\beta$ -felandreno, D-limoneno, 3-careno,  $\alpha$ -cariofileno,  $\alpha$ -cubebeno y spatulenol.
- 4.-El aceite volátil tiene actividad antimicrobiana frente a algunas cepas seleccionadas. Siendo las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Micrococcus luteus*, sensibles; de *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Acinetobacter sp.* y *citrobacter sp.*, poco sensibles; y de *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratiphy* y *Pseudomonas aeruginosa*, resistentes.

## VII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- CABIESES, F. *Apuntes de Medicina Tradicional. La Racionalización de lo Irracional*. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. CONCYTEC. Lima Perú. 1983. pp 284-288.
- 2.- CASTRO, A. G.; LEMA, M. N. *Determinación de la actividad Antibacteriana de las Plantas Medicinales de Huancayo y Huarochiri*. Tesis de Aptitud Profesional. 1993. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM.
- 3.- CERRATE, E. El Molle. Boletín Lima. 2: 28-32. Folleto editado por el Museo de Historia Natural. Javier Prado. Lima Perú.
- 4.- CHAVEZ, V. N. *La Materia Medica en el Incanato*. Editorial Mejía Baca. Lima Perú. 1977. pp 257-258.
- 5.- CLAUS, E. P., TYLER, V. E. *Farmacognosia*. Edición Revolucionaria. 1988. Habana Cuba. pp 4-28, 164-208.
- 6.- CORREA, J. E., BERNAL, H. Y. *Especies Vegetales, promisorias del Perú de los Países de Convenio Andrés Bello* (PREVE CAB). Ciencia y Tecnología N° 11. Tomo I. Primera edición Bogotá. 1989. pp 169- 180.
- 7.- CONTRERAS, S. G. *Actividad Antimicrobiana de Aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a las Bacterias Enteropatógenas*. Tesis de Aptitud Profesional. 1983. Lima Perú.
- 8.- DIAZ, A. P., TORRES, D. R. M. (1998). *Actividad antimicrobiana, in vitro del aceite esencial de *Schinus molle* L.* Trabajo de aptitud profesional. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM. Lima Perú.
- 9.- ENCARNACION, F. *Nomenclatura de Especies Forestales comunes en el Perú*. Proyecto PNUD/FAO/PER. 1993. pp 23-24.

- 10.- ENER, G. J., CARRILLO, P. E. *Especies Forestales "Pseudoepifitas" en el Valle sagrado de los Incas. Cuzco.* Boletín de Lima. (Perú). Jul. 1985 N° 40 pp. 75-80.
- 11.- FERNANDEZ, F. M., NIETO, P. A. M. *Fitoterapia.* New books ediciones. España 1998.
- 12.- FONT QUER, P. *Plantas Medicinales: El Dioscorides.* 3<sup>o</sup> edición. Editorial Labor. España. 1976. pp 440.
- 13.- FORMULARIO FARMACEUTICO. *Consejo general de Colegios Oficiales de farmacéuticos.* Volumen I . pp. 87-96.
- 14.- GALLOWAY, G.; BAGO, G. *Manual de viveros forestales en la Sierra Peruana.* Proyecto FAO/ HOLANDA/INFOR. 1983. pp 75.
- 15.- HARBONE, J. B. *Phytochemical Methods.* A Guide to Modern Techniques of plant Analysis. Third Edition 1998. Chapman y Hall pp. 111-124, 159-170.
- 16.- HARRINSON, T. J. *Farmacognosia.* Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM. 1983. Lima Perú. Pp 177-199.
- 17.- HERRERA, F. C. *Sinopsis de la Flora de Cuzco.* Tomo N° 1 (12) 1971. Cuzco Perú.
- 18.- HUGH, J. *Los Arboles.* Edición Castellana. Editorial Blume. Impreso en España. 1976. pp 233-235.
- 19.- KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D. (1992) *Diagnostic Microbiology.* Buenos Aires.
- 20.- LOCK DE UGAZ, O. *Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de Productos Naturales.* Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial. Lima Perú. 1988 pp 22- 28.
- 21.- MADRID, G. P. *El fruto de Schinus molle L, su interés Bromatológico en la elaboración de la llamada Chicha de molle.* Tesis de Aptitud Profesional 1945. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM. Lima Perú.

- 22.-MARTINEZ, R. M. *Contribución al Estudio y Aplicación Industrial del Aceite Esencial del **Schinus molle** L.* Tesis de Aptitud Profesional. 1961. UNALM. Lima Perú.
- 23.-MIRANDA, M. M. *Métodos de Análisis de Drogas y extractos.* Universidad de Habana. Ciudad de Habana- Cuba. 1996.
- 24.-MUÑOZ, L. de B. F. *Plantas Medicinales y Aromáticas. Estudio, Cultivo y Procesado.* Edición Mundi - prensa, Castellano. Madrid 1987. pp 455-458.
- 25.- NAQUI, S., KHAN, M. JOHORA, S. *Antibacterial Antifungal and Antihelmintic Investigations on Indian medicinal plant.* Fitoterapia LXIII (3) . pp. 221-224.
- 26.- NORMAN, G. B. *Herbal Drug and Phytopharmaceutical.* Medpharm scientific Plubisters. Stuttgart 1994 pp.1-40.
- 27.- NORMAS CUBANAS. *Aceites esenciales y otras sustancias Aromáticas.* República de Cuba. 1982. 35.01-35.23.
- 28.- OSCO, Q. P. *Estudio de Factibilidad de Instalación de una Planta de Obtención de Aceite Esencial de Eucalipto.* Tesis de Aptitud Profesional, 1971. UNI. Lima Perú.
- 29.- PANDURO, C. C. *Extracción del aceite esencial de Copaiba (**Copaifera reticulata** Ducke) por Destilacion Seca al Vacío.* Tesis de Aptitud para optar el grado de Magister Sciential. 1993. UNALM. Lima Perú.
- 30.- PRENSA AROMATICA. *Organo de la Sociedad Argentina para la Investigación de productos Aromáticos.* #11 pp 14, # 12 pp 7.
- 31.- RAMIREZ, S., SALAZAR, M. *Estudio Fitoquímico y Microbiológico de 5 especies del Género Calceolaria.* Trabajo de Aptitud Profesional. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM. pp. 43-53.
- 32.-Recursos Vegetales de uso Medicinal. *Cátedra de Salud Publica.* Facultad de Farmacia y bioquímica. 1991. UNMSM. Lima Perú pp 91.
- 33.- ROIG, J. T. *Compendio de las Obras.* Ministerio de la cultura. Editorial Científico Tecnica- Ciudad de Habana 1983 pp. 15-17.

- 34.- SAN MARTIN, C. *Farmacognosia General*. Editorial. Científico Médico. Barcelona. 1978. pp 235-243.
- 35.- SOUKUP, J. *Vocabulario de los nombres Vulgares de la Flora Peruana y Catálogo de Géneros*. Ediciones Salesiana. Lima Perú.
- 36.- TEODORO, F. F. *Investigación de Esencias de Vainilla, Anis, Naranja y su identificación Mediante Cromatografía y espectrofotometría IR*. Tesis de Aptitud Profesional. 1995. Facultad de Farmacia y Bioquímica . UNMSM.
- 37.-TORRES, C. J. *Elaboración de Chicha, vinagre y Extracto de Aceite Esencial*. Tesis de Aptitud Profesional. Facultad de Industria Alimentaria. 1978. UNALM. Lima Perú.
- 38.- TREASE, G. E., EVANS, W. C., *Farmacognosia*. 13<sup>va</sup> edición. Editorial Mc Graw Hill de Mexico. D.F. 1991. pp 177-183.
- 39.- TYLER, V. E. *Farmacognosia* 2<sup>da</sup> Edición. Editorial Ateneo. Buenos aires. 1979. pp 114-118 , 177- 199.
- 40.-WAGNER, H., BLADT, E., *Plant Drug Analysis*. Editorial Springer 1995. Munich Germany. pp 149-192.
- 41.- WERBERBAUER. *El Mundo Vegetal de los Andes Peruanos*. Editorial Lumen S.A. Lima Perú. 1945. Pp175- 1976.
- 42.-WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Quality Control Methodos for Medicinal Plant Material*. WHO/PHAR 92 559.
- 43.-WORLD HEALTH ORGANIZATION. *The Use of Esencial Drug. Technical Report*. Series, 796, Genova 1990.
- 44.-UNITED STATES PHARMACOPIE. *Antibiotic microbial assays*, USP XXII. 1990 pp 1488-1493.
- 45.- ZARATE, O. R., ALVAREZ, H., GORRITI, G. A., JURADO,T. B. *Manual de Farmacognosia y productos naturales Terapéuticos*. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM. 1995. pp 7-66.